

Molekular- und populationsgenetische Untersuchungen zur
Fruchtbarkeit der Rinderrasse Holstein-Friesian

von Marc-Philipp Müller

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Molekular- und populationsgenetische Untersuchungen zur
Fruchtbarkeit der Rinderrasse Holstein-Friesian

von Marc-Philipp Müller

aus Detmold

München 2016

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tierzucht und Allgemeine Landwirtschaftslehre

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Priv.- Doz. Dr. Ivica Međugorac

Mitbetreuung durch Dr. Sophie Rothhammer

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Ivica Međugorac

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Holm Zerbe

Tag der Promotion: 6. Februar 2016

Der Tiermedizin,
meiner Familie,
meinen Freunden
und all denen,
die mich unterstützten, Tierarzt zu werden
und die Doktorwürde der Veterinärmedizin zu erreichen.

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	X
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT.....	3
1. Das Rind	3
1.1. Domestikation	3
1.2. Der Beginn der Milchnutzung	3
1.3. Laktationszyklus.....	4
1.4. Ökonomie der Laktation – welche Kuh ist rentabel?	5
2. Die Rinderrasse Deutsche Holstein.....	7
3. Molekulare Marker, Genkarten und Kartierungsmethoden.....	11
3.1. Molekulare Marker: SNP (Single Nucleotide Polymorphism)	11
3.2. Genkarten	12
3.3. Arten von genetischen Markern	13
3.4. QTL (Quantitative Trait Loci).....	14
3.4.1. Linkage.....	14
3.4.2. Linkage Disequilibrium.....	15
3.5. Kombinierte <i>Linkage Disequilibrium</i> – <i>Linkage</i> Analyse (<i>cLDLA</i>)	16
3.6. GWAS (Genomweite Assoziationsstudie)	16
4. Zuchtwertschätzung.....	17
4.1. Rechtliche Grundlage	17
4.2. Zuchtwertschätzung in Deutschland für Holstein-Friesian	17
5. Fruchtbarkeit.....	19
6. Störungen der Fruchtbarkeit	20
6.1. Der Einfluss von Schwankungen im Body-Condition-Score auf die Fruchtbarkeit	20
6.2. Fruchtbarkeit contra Milchleistung?	20
6.3. Östrus Expression und Dauer	22
6.4. Häufige Erkrankungen nach dem Kalben bis zur erneuten Trächtigkeit ...	23
7. Genetische Einflüsse auf die Fruchtbarkeit.....	25
7.1. Inzuchtanstieg und Fruchtbarkeitsabfall	25

7.2.	Kopplung von Milch- und Fruchtbarkeitsproblemen mit negativer Wechselwirkung.....	27
7.3.	Pleiotropie	29
7.4.	Bisherige genomweite Studien in Holstein Rindern zu Fruchtbarkeits- und Kalbproblemen	30
III.	MATERIAL UND METHODEN	32
1.	Material	32
1.1.	Genotypisierung mit 50K-Chip und Qualitätskontrolle	32
1.2.	Verwendete Merkmale, Zuchtwerte und Pedigree	33
1.3.	Zusätzliche Genotypisierung mittels HD-Chip	33
1.4.	Sequenzierung	34
2.	Methoden.....	34
2.1.	Haplotypenrekonstruktion	34
2.2.	Unified additive relationship und Hauptkomponentenanalyse	34
2.3.	Locus IBD (LocIBD) und Diplotyp-Verwandtschaftsbeziehung.....	35
2.4.	Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse	35
2.5.	Mixed linear model association (MLMA)-Analyse	43
2.6.	Literaturrecherche und weiterführende <i>cLDLA</i> und <i>MLMA</i> auf BTA18 zur Absicherung der Ergebnisse.....	43
2.6.1.	Literaturrecherche	43
2.6.2.	<i>MODELL#2</i> : Ausschluss des SNP <i>ARS-BFGL-NGS-109285</i>	44
2.6.3.	<i>MODELL#3</i> : Absicherung des Haplotyps Q1, der ideal mit einem QTL assoziiert ist, und mögliche carry-over Effekte.....	44
2.6.4.	<i>MODELL#4</i> : SNP <i>ARS-BFGL-NGS-109285</i> als fixer Effekt modelliert	45
2.6.5.	<i>MODELL#5</i> : Ausschluss des SNP <i>BTA-29287-no-rs</i>	45
2.6.6.	<i>MLMA#2</i> : virtueller SNP der auf dem Haplotyp basiert.....	45
2.7.	Deregression der Zuchtwerte	46
2.8.	Vergleich der Sequenzdaten.....	47
IV.	ERGEBNISSE	48
1.	Genomweite Ergebnisse.....	48
1.1.	<i>cLDLA</i> Ergebnisse des gemischten linearen Modells, <i>MODELL#1</i>	48
1.2.	Ergebnis der <i>MLMA#1</i> , <i>MLMA-LOCO</i> Methode	50
2.	BTA18-spezifische Ergebnisse	51

2.1.	Maximum in <i>MODELL</i> #1 auf BTA18 bei 59.179.424 bp.....	51
2.2.	Vergleich von 50K- und HD-Chip.....	53
2.3.	BTA18: <i>MLMA</i> #1	55
3.	Korrelationen.....	56
4.	Absicherung der Ergebnisse und Validierung der <i>cLDLA</i>.....	58
4.1.	Übereinstimmungen mit den Ergebnissen der Literatur	58
4.1.1.	QTL mit ‚direkt‘ zutreffenden Übereinstimmungen.....	59
4.1.2.	‚Direkte‘ Übereinstimmungen mit signifikanten SNP aus GWAS-Studien bezüglich Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmalen der letzten Jahre	60
4.1.3.	QTL mit ‚indirekt‘ zutreffenden Übereinstimmungen.....	61
4.2.	Deregressierte Zuchtwerte auf BTA18	62
4.3.	Modelle zur Validierung und Sequenzdatenvergleich	65
4.3.1.	<i>MODELL</i> #2: SNP <i>ARS-BFGL-NGS-109285</i> aus dem Markerset entfernt...65	
4.3.2.	<i>MODELL</i> #3: Haplotyp Q1 als fixer Effekt.....	66
4.3.3.	<i>MODELL</i> #4: SNP <i>ARS-BFGL-NGS-109285</i> modelliert als fixer Effekt	68
4.3.4.	<i>MODELL</i> #5: SNP <i>BTA-29287-no-rs</i> ausgeschlossen	71
4.3.5.	<i>MLMA</i> #2: virtueller SNP der auf Haplotyp Q1 basiert.....	71
4.3.6.	Sequenzdatenvergleich.....	72
V.	DISKUSSION	76
1.	Genomweit	76
1.1.	Diskussion der QTL: Zusammenhang der Merkmale	76
1.2.	Mögliche Kandidatengene für kartierte QTL.....	79
1.3.	Diskussion der Methoden: <i>cLDLA</i> und <i>MLMA</i> und Übereinstimmungen untereinander	81
2.	BTA18.....	83
2.1.	<i>MODELL</i> #2, -#3, -#4, <i>MLMA</i> #2 und Vergleich der Sequenzdaten	84
2.2.	<i>MODELL</i> #5	85
2.3.	Korrelationen zwischen Phänotypen maternalen und paternalen Ursprungs	86
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	89
VII.	SUMMARY.....	91
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	93

IX.	ANHANG	117
X.	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS.....	127
1.	Abbildungsverzeichnis	127
2.	Tabellenverzeichnis.....	128
XI.	DANKSAGUNG	130

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Adenin, Purinbase
ADR	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter
BCS	Body-Condition-Score, Skala zur Einteilung der Körperkondition
BLUP	Best Linear Unbiased Prediction
bp	Basenpaare
BTA	<i>Bos taurus</i> Autosom
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin, Pyrimidinbase
CI	Konfidenzintervall
CL	<i>Corpus luteum</i> , Gelbkörper
<i>cLDLA</i>	Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse
cm	Zentimeter
cM	Centimorgan
CTU1	Cytosolic Thiouridylase Subunit 1
d	Tag
DGAT1	Diacylglycerol-Acyltransferase 1
d. h.	das heißt
DM	Deutsche Mark
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DO	Güstzeit, Days Open
D _{RM}	Diplotyp Verwandtschaftsmatrix

etc.	<i>et cetera</i>
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
FSHR	FSH-Rezeptor
G	Guanin, Purinbase
GATA4	GATA-bindendes Protein 4
G _{RM}	Additiv genetische Verwandtschaftsmatrix
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
HD	High Definition, hochauflösend
HD-Chip	BovineHD BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA mit 777.962 SNP
HF	Holstein-Friesian
IBD	Identity by descent
IGV	<i>Integrative Genomics Viewer</i>
KB	Künstliche Besamung
kg	Kilogramm
LALBA	Lactalbumin Alpha
LBG	Lactoglobulin Beta
LD	linkage disequilibrium, Kopplungsungleichgewicht
LH	Luteinisierendes Hormon
LHCGR	Luteinisierendes Hormon und Choriongonadotropin Rezeptor
LocIBD	Lokale IBD
LOD	Logarithm of odds, Logarithmus der Chancen
<i>LRT</i>	likelihood ratio test statistics
<i>LRT_{CI}</i>	<i>LRT</i> -Minimum = Signifikanzniveau $P < 1 \times 10^{-5}$

LRT_{max}	Maximale(r) LRT mit einem LRT -Wert $\geq 19,511$ ($P < 10^{-5}$)
MAF	minor-allele-frequency, geringfügigste Allelhäufigkeit
Mbp	Megabasenpaare
mKV	Maternaler (indirekter) Kalbeverlauf
$MLMA$	Mixed-linear-model association analysis
MLM_e	Mixed-linear-model – excluded
mTG	Maternale (indirekte) Totgeburt
nQTL	Anzahl der QTL
NR56K	Non-Return-Rate 56 d für Kühe
NR56R	Non-Return-Rate 56 d für Rinder
NRR	Non-Return-Rate
PC	Principal Component, Hauptkomponente
PCA	Hauptkomponentenanalyse
pKV	Paternaler (direkter) Kalbeverlauf
p.p.	<i>post partum</i>
pTG	Paternale (direkte) Totgeburt
QTL	Merkmalsbeeinflussende(r) Genort(e), Quantitative Trait Locus(i)
RH	Red Holstein
RZ	Rastzeit
Siglec12	Sialic Acid Binding Ig-Like Lectin 12
SNP	Single Nucleotide Polymorphism, Einzelnukleotidpolymorphismus
T	Thymin, Pyrimidinbase
UAR	Vereinheitlichte additive Verwandtschaftsbeziehungen

USA	Vereinigte Staaten von Amerika
VIT	Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V., Verden
VZK	Verzögerungszeit für Kühe
VZR	Verzögerungszeit für Rinder
z. B.	zum Beispiel
ZFPM2	Zinkfinger Protein Multityp 2
ZNF615	Zinkfingerprotein 615
50K-Chip	BOVINESNP50 BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA mit 1 ~54.000 SNP
€	Euro
£	Britisches Pfund
\$	US-Dollar

I. EINLEITUNG

Fruchtbarkeitsprobleme bei Milchkühen sind ein weit verbreitetes Problem in vielen Beständen verschiedener Milchvieh- und Zweinutzungsrasen. Auffällig ist dabei, dass die Fruchtbarkeit der Tiere in den vergangenen Jahrzehnten zusehends sank, während die Milchleistung eine kontinuierliche Steigerung erfuhr (VEERKAMP et al., 2003). In amerikanischen Holstein-Friesian hat sich die Milchleistung beispielsweise von 6.300 kg Jahres-Laktationsleistung (1960) in 40 Jahren auf 11.800 kg Milch (2000) gesteigert und somit rund verdoppelt (KADRI et al., 2014). Die starke Zunahme der Milchleistung ist dabei annähernd zur Hälfte auf die optimierte Haltung und Fütterung der Tiere (PRYCE et al., 2004) zurückzuführen. Etwas mehr als die Hälfte der Zunahme der Milchleistung sind nach DEKKERS und HOSPITAL (2002) aber der verbesserten Genetik hinsichtlich der Milchleistung geschuldet. Da eine optimierte Haltung und Fütterung auch hinsichtlich der Fruchtbarkeit von Vorteil ist (LUCY, 2001), muss die beobachtete negative Korrelation zwischen Milchleistung und Fruchtbarkeit entweder i) in der gesteigerten Leistung an sich und/oder ii) in der ungewollten Anreicherung negativer Varianten im Genom begründet sein. Angesichts der Tatsache, dass Färsen im Vergleich zu laktierenden Kühen eine bessere Fruchtbarkeitsleistung aufweisen, kann davon ausgegangen werden, dass die Leistung, die eine Kuh erbringen muss, tatsächlich Einfluss auf ihre Fruchtbarkeit hat. Manche Autoren (z. B. LUCY, 2001) stellten bereits die Hypothese auf, dass es eine minimale Milchproduktionsschwelle gibt, nach deren Überschreitung die Fruchtbarkeit absinken würde. Jedoch wurde auch vielfach gezeigt, dass die Milchleistung der Tiere auf genetischer Basis häufig in Konkurrenz zur Fruchtbarkeit steht (NEBEL & MCGILLIARD, 1993, PRYCE et al., 1997, SWALVE, 2003, PRYCE et al., 2004). SCHULMAN et al. (2008) konnten z. B. auf dem Rinderchromosom 1 einen gekoppelten QTL (Quantitative Trait Locus) für Milchproduktions- und Fruchtbarkeitsmerkmale kartieren. QTL sind quantitativ „merkmalsbeeinflussende Genorte“ (KANITZ et al., 2008), d. h. ein quantitatives Merkmal wird von vielen verschiedenen QTL beeinflusst. Ein qualitatives Merkmal, wie Farbe, wird z. B. nur von einem oder wenigen Genen beeinflusst. KANITZ et al. (2008) geben an, dass Störungen der Fruchtbarkeit für etwa 20 % aller Abgänge verantwortlich sind. Dies belegen auch die Zahlen der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter

der letzten Jahre. Aktuell (2014) verließen 21,2 % der abgeschafften Tiere die Betriebe aufgrund von Fruchtbarkeitsproblemen. Die Tiere scheiden durchschnittlich bereits mit nur 2,75 Laktationen aus, wobei besonders die sehr früh, bereits in der ersten Laktation, ausgemerzten Tiere diesen Durchschnitt verursachen (ADR, 2015). Es ist daher nicht verwunderlich, dass LUCY (2001) den Rückgang der Effizienz von Fruchtbarkeit und Fortpflanzung von modernen Milchkühen als eine Herausforderung für Forschung und Zucht bezeichnete, die zweifellos Auswirkungen auf die künftige Effizienz der Milchindustrie haben wird. Bereits vor fast 20 Jahren berichten DEMATAWENA und BERGER (1997) über Kosten von 380 \$ (~230 £, bzw. ~550 DM in 1996) für einen schweren Kalbeverlauf, Grad 5 von 5 (tierärztliche Hilfe war nötig). MCGUIRK et al. (2007) berichteten von 395 £ (~ 568 €, 825 \$ in 2007) für schwere Kalbungen, die veterinärmedizinische Hilfe benötigten. Neben diesen ökonomischen Kosten ist die Schweregeburt ebenfalls ein großes Problem den Tierschutz betreffend. Der Geburtsverlauf bei Schweregeburten ist eines der schmerzhaftesten Erlebnisse der Kühe (Schmerzgrad 7 von 10). Bei Kälbern wird sogar der Schmerzgrad 10 von 10 erreicht (HUXLEY & WHAY, 2006).

Aufgrund der enormen Bedeutung dieses Problems (sowohl wirtschaftlich, als auch seitens des Tierschutzes) wurde bereits in der Vergangenheit großer Forschungsaufwand betrieben mit dem Ziel, Genorte (Genloci) zu identifizieren, welche die Fruchtbarkeit beeinflussen (z. B. KÜHN et al., 2003, THOMASEN et al., 2008, COLE et al., 2009, SEIDENSPINNER et al., 2009, SAHANA et al., 2011, COLE et al., 2014b).

Das Ziel der Forschung der vorliegenden Studie ist es, neue Ergebnisse zu erarbeiten, die dazu beitragen, die Fruchtbarkeitsleistung in Holstein Kühen zu verbessern. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde eine genomweite QTL-Kartierung, basierend auf Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) mittels kombinierter Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungs-Analyse (*cLDLA*) durchgeführt. Im Unterschied zu den Studien, die bisher meistens auf einzelnen SNP basierende Techniken nutzten, wurde die hier verwendete Methode optimiert, Haplotypen zu identifizieren (bestehend aus mehreren SNP), die mit entsprechenden Merkmalen assoziieren.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Das Rind

1.1. Domestikation

Beim heute in Europa üblichen Hausrind geht man nach derzeitigem Wissensstand davon aus, dass es sich um eine domestizierte Form des Auerochsen (*Bos taurus primigenius*) handelt. Der Phänotyp hat sich stark gewandelt, sodass sich das Hausrind deutlich vom Auerochsen unterscheidet. So ist z. B. die Körpergröße stark zurückgegangen (SAMBRAUS, 1991).

Vorrangig wurde die Domestikation betrieben, um die Fleischversorgung zu sichern. Wichtigstes Nebenprodukt ist seit jeher die Haut der Tiere, die zu Leder weiterverarbeitet wird. Auch die Milch der Tiere, ebenfalls eine hochwertige Proteinquelle, wurde als Nahrungsmittel entdeckt (SAMBRAUS, 1991). Diese Nutzung ist entwicklungsgeschichtlich schon sehr alt und kann mit fast 8000 Jahre alten Funden belegt werden (STOCKRAHM, 2009). Als weitere ehemals wichtige Form der Nutzung kam noch die Nutzung als Zugtier hinzu. Diese spielt in Europa heute jedoch kaum noch eine Rolle (SAMBRAUS, 1991, STOCKRAHM, 2009).

1.2. Der Beginn der Milchnutzung

Der Mensch benötigt das Enzym Laktase um die Laktose (Disaccharid) in die verwertbaren Monosaccharide Galaktose und Glukose aufzuspalten. Natürlicherweise können dies alle Säuglinge, da sie hauptsächlich mit Milch ernährt werden. Diese Fähigkeit geht dann während des Wachstums, mit zunehmendem Alter, verloren und ab etwa dem fünften Lebensjahr produziert der Dünndarm dieses Enzym nicht mehr. Je nach Kontinent bzw. Region, gibt es verschiedene Mutationen, die es dem Menschen erlauben, die Laktase auch im Erwachsenenalter zu exprimieren, und ihm so die Fähigkeit, Milch zu verdauen, erhalten (STOCKRAHM, 2009). Der Genetiker Mark Thomas vom University College in London datiert den Beginn des Konsums von Milchprodukten in der Region des heutigen Rumäniens und Ungarns auf eine Zeit vor 7900 bis 7450 Jahren, also der Jungsteinzeit (STOCKRAHM, 2009). Dunne et al. (2012) analysierten die Fettsammensetzungen von Lebensmittelresten an Tonscherben, die in der Sahara ge-

funden wurden. An diesen Scherben, datiert auf einen Zeitraum von 5200 - 3800 vor Christus, wurden MilCHFette festgestellt. Sie schließen daraus, dass zu dieser Zeit dort bereits Nomadengruppen eine frühe Milchwirtschaft betrieben.

Heute ist die Milch ein wichtiges Grundnahrungsmittel, vor allem der europäischstämmigen Population. Die europäische Bevölkerung ist in der Regel in der Lage die Laktose zu tolerieren und aufzuspalten. Viele andere Bevölkerungsgruppen hingegen sind Laktose-intolerant. Bei Laktose-Intoleranz wird nach dem Säuglingsalter das Enzym Laktase, das für die Spaltung des MilChzuckers benötigt wird, nicht mehr exprimiert.

Milch ist aus unserem täglichen Bedarf gar nicht mehr wegzudenken: Sei es in Form von Milchprodukten wie Butter, Käse, Quark, Joghurt, oder als Trinkmilch wie der Schluck Milch in den Kaffee. Pro Kopf wurden 2014 durchschnittlich 57,6 kg Konsummilch, 5,7 kg Sahneerzeugnisse, 30,0 kg MilChmischgetränke, 24,6 kg Käse und 6,1 kg Butter in Deutschland verbraucht (MILCHINDUSTRIEVERBAND, 2015). Der gesamt-landwirtschaftliche Produktionswert in Deutschland wurde für 2013 mit rund 53,95 Milliarden € angegeben. Davon werden 11,48 Milliarden € (21,28 %) dem Produktionswert der Milch zugerechnet. Bezogen auf die tierischen Erzeugnisse (24,34 Milliarden €) beträgt der Anteil des Produktionswertes der Milch mit 47 % sogar fast die Hälfte des Wertes aller tierischen Erzeugnisse (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT, 2014).

1.3. Laktationszyklus

Die Milchproduktion der MilChkuh hängt von der Fähigkeit ab tragend zu werden, da dies den Kreislauf der Laktation initiiert und er sich dadurch auch erneuert (LUCY, 2001). Somit nimmt die Fruchtbarkeit der Tiere eine Schlüsselrolle ein, ohne die der Zweck (Milchnutzung) des Tieres entfällt.

Milchkühe werden von der Geburt des Kalbs an gemolken, d. h. mit der Geburt beginnt die Laktation. Die als ideal angesehene Laktationsdauer beträgt etwa 305 Tage [Tragzeit ca. 285 d (je nach Rasse) + 21 d Zyklusdauer]. Eine längere Laktation weist in der Regel auf Probleme bezüglich der Konzeption des Tieres hin, bzw. darauf, dass der Landwirt eine längere freiwillige Wartezeit (> 60 d) veranschlagt hat. Meistens wird die Kuh 60 Tage vor der nächsten anstehenden Abkalbung trockengestellt, d. h. nicht mehr weiter gemolken. Somit sollte jede

Kuh (theoretisch) ein Kalb im Jahr gebären und damit auch eine Laktation je Jahr durchlaufen. Dies geschieht, um eine möglichst hohe Effizienz und Lebensproduktivität zu erzielen. Schon zu Beginn der Laktation, nach Ablauf der festgesetzten freiwilligen Wartezeit, wird die Milchkuh erneut besamt und eine neue Trächtigkeit etabliert sich, wobei sich Gestation und Laktation bis zur Trockenstehzeit vor einer erneuten Laktation überlappen (LUCY, 2001).

1.4. Ökonomie der Laktation – welche Kuh ist rentabel?

Wie HARMS (2007), RÖMER (2011) und LÜHRMANN (2015) für Deutschland berichten, benötigt eine Milchkuh der Rasse Holstein-Friesian (HF), welche in Deutschland als Deutsche Holstein bezeichnet wird, bis zu ihrer Amortisierung etwa eine Lebensleistung von 30.000 kg Milch. Bei einer Mindestmenge von durchschnittlich etwas über 20 kg/Tag hat sich das Tier somit nach etwa 3,5 Laktationen amortisiert und beginnt Gewinn zu erwirtschaften. Die Lebenseffektivität sollte jedoch grundsätzlich bei über 15 kg Milch je Lebenstag liegen. Die Ökonomie ist von Betrieb zu Betrieb unterschiedlich, da unterschiedlich effektiv gewirtschaftet wird und die Aufzuchtkosten für eine Färse (HF) von 1232 € bis 2269 € (HARMS, 2007) deutlich divergieren. Die von RÖMER (2011) veranschlagten 1500 € (genau 1545 €) erscheinen hier als gut merkbare und aktuelle Faustzahl.

Das Problem besteht heutzutage darin, dass ein HF-Tier bis zum Ausscheiden aus dem Betrieb nur 2,75 Laktationen gemolken wird (für 2014 errechnet aus den durchschnittlichen ADR-Daten für HF-Tiere, Milchleistungsgeprüft; ADR, 2015). Die Nutzungsdauer bei ausgemerzten Tieren lag für 2014 bei 35,8 Monaten, dabei hatten die Tiere ein Alter von 63,7 Monaten erreicht und 26.233 kg Milch erwirtschaftet (Durchschnittswerte aus VIT, 2015). Rund 29 % der erstlaktierenden Kühe verlassen den Betrieb schon wieder in der ersten Laktation. In den ersten Laktationen sind die Tiere noch im Wachstum und nehmen bis zur dritten Laktation jeweils um etwa 100 kg Körpermasse zu (RÖMER, 2011). In der dritten Laktation erreichen sie ihr Laktationsmaximum (VIT, 2015); doch die dritte Laktation erreichen nur etwa 21 % aller Kühe (RÖMER, 2011). Da die Tiere erst spät ausgewachsen sind, berichtet RÖMER (2011), dass ein ausgewachsenes Tier in der vierten Laktation gegenüber einem in der ersten Laktation eine 18 % höhere Milchleistung erbringt. Daher sollte die Merzung eines alten Tieres wohl überlegt sein. Aktuell (für 2014) liegt die Differenz der Milchleistung zwischen der ersten

und vierten Laktation deutscher Holsteinkühe bei 17 % (VIT, 2015).

Tabelle 1 soll einen Überblick über die aktuelle Situation der Milchleistungen und des Herdenaufbaus in Deutschland vergegenwärtigen, durch eine repräsentative Stichprobe der vom VIT (2015) veröffentlichten Leistungen. Es ist deutlich die Altersstruktur erkennbar, über 60 % der Tiere sind erst- und zweitlaktierend.

Tabelle 1: Laktationsleistungen der deutschen Schwarzbunten Holstein-Friesian (HF) und Rotbunten HF für das Jahr 2014 (VIT, 2015).

Gezeigt werden die veröffentlichten Daten für die Anzahl der berücksichtigten Tiere, Melktage, Milch und -Inhaltsstoffe sowie das Erstkalbealter (EKA) für Laktationsnummer 1 in Monaten (M) und die Zwischenkalbezeit (ZKZ) in Tagen (d). Für alle Laktationen werden jeweils die Summen (Σ), bzw. Durchschnittswerte dargestellt.

Lak-tation	Anzahl Kühe		Melk-tage	Milch [kg]	Fett [%]	Fett [kg]	Eiweiß [%]	Eiweiß [kg]	EKA [M] /ZKZ [d]
	abs.	in %							
Schwarzbunte HF									
1	413.504	34,6	300	8.114	3,93	319	3,34	271	27
2	315.906	26,5	300	9.355	3,95	370	3,36	315	414
3	214.413	18,0	300	9.734	3,98	388	3,32	323	413
4	125.647	10,5	300	9.693	4,02	389	3,31	321	417
5	67.396	5,6	300	9.490	4,04	384	3,30	313	418
6	33.446	2,8	299	9.209	4,07	375	3,29	303	420
7	14.424	1,2	299	8.891	4,09	363	3,29	292	423
8	5.525	0,5	299	8.588	4,09	351	3,28	282	429
9	2.321	0,2	298	8.222	4,09	336	3,27	269	433
>9	1.636	0,1	299	7.740	4,09	316	3,25	252	435
Alle Lak-tationen	Σ 1.194.218	Σ 100,0	300	9.019	3,97	358	3,34	301	415
Rotbunte HF									
1	20.288	34,1	300	7.245	4,09	296	3,37	244	29
2	15.165	25,5	299	8.179	4,15	339	3,41	279	415
3	10.418	17,5	299	8.554	4,15	355	3,35	287	410
4	6.277	10,6	299	8.531	4,15	354	3,32	283	411
5	3.572	6,0	299	8.382	4,18	350	3,31	278	415
6	1.897	3,2	299	8.134	4,20	341	3,30	268	415
7	997	1,7	299	7.986	4,21	336	3,29	263	417
8	440	0,7	299	7.508	4,19	315	3,28	246	415
9	201	0,3	298	7.180	4,21	302	3,27	235	416
>9	156	0,3	297	6.750	4,16	281	3,23	218	417
Alle Lak-tationen	Σ 59.411	Σ 100,0	299	7.958	4,14	329	3,36	268	413

2. Die Rinderrasse Deutsche Holstein

Die Ausgangspopulation der heutigen Holstein Rinder stellt das *Schwarzbunte* und *Rotbunte Niederungsrind* dar. Das *Schwarzbunte Niederungsrind* stammt vor allem aus den Niederungen der Nord- und Ostsee, während das *Rotbunte Niederungsrind* vorrangig aus dem Rheinland, Schleswig und Westfalen stammt und den Ursprung der RH-Population darstellt. Besonders erwähnt werden die Friesischen Zuchtgebiete, die sich sowohl auf Norddeutschland und Holland erstrecken. Die Rinder stellten sich anfangs farblich recht variabel dar. Für den holländischen Raum wird überliefert, dass etwa 300.000 Rinder in 1713/14 der Rinderpest zum Opfer fielen und aus umliegenden Ländern Rinder importiert wurden. Einem zweiten Ausbruch der Rinderpest (1744 – 1756) fielen zweidrittel der Friesländischen Rinderpopulation zum Opfer (BRADE & BRADE, 2013) und durch Einführen aus Norddeutschland und dem dänischen Jütland kam es zur Farbänderung der zuvor einfarbig und vor allem rötlich gefärbten Rinder (BRADE & BRADE, 2013). Die schwarze Zeichnung setzte sich ab 1750 wegen ihrer Dominanz durch, wobei es immer wieder auch zur rotbunten Zeichnung kam, die in der Population rezessiv verankert ist (BAKKER, 1909, BECKER, 1973, FELIUS, 1995, BRADE & BRADE, 2013).

Neben den friesischen Rindern an den Küstenniederungen wurden die Schwarzbunten Niederungsrinder als Ursprungsrasse „von Schleswig bis in die Mittelgebirge von Hessen und Rheinland-Pfalz sowie vom Niederrhein bis Ostpreußen“ gezüchtet (HALLER, 2000). Besonders die Tiere Ostpreußens waren es, die zu enormen Leistungen fähig waren (Spitzentier Quappe 14.708 kg Milch, 3,92 % = 577 kg Fett in 365 tägiger Prüfung: FRIEDE, 1951, BLOECH, 1988). Denn 1938 gab die Milchkuh in Ostpreußen mit 3096 kg im Durchschnitt 107 kg mehr Milch als die Milchkühe in Schleswig-Holstein (2989 kg), während die Schwarzbunten Herdbuchkühe im Durchschnitt 4128 kg Milch und 139 kg (= 3,37 %) Fett produzierten, 84 kg Milch und 4,3 kg Fett über dem Schnitt des Deutschen Reiches (BLOECH, 1988).

Es wurde ein Nachweis im „Amtsblatt für die landwirtschaftlichen Vereine des Königreiches Sachsens“ vom Juni 1868 gefunden, dass bereits im Sommer ein Schwarzbunt-Herdbuch in den Königreichen Sachsens über die ‚Oldenburger Milchrassen‘ geführt wurde. Viele weitere folgten im nordwestlichen und auch ostpreußischen Raum bis 1883 (KÖPPE-FORSTHOFF, 1967).

Die in Königsberg 1882 gegründete „Ostpreußische Holländer Herdbuchgesellschaft“ (BLOECH, 1988) wurde so genannt, da ein großer Teil der Tiere aus Holland stammte. Bereits nach der Jahrhundertwende wurde der Zusatz ‚Holländer‘ gestrichen (PETERS, 1909, FRIEDE, 1951, BLOECH, 1974, 1988). Diese in Ostpreußische Herdbuchgesellschaft umbenannt Rinderzuchtvereinigung fusionierte und entwickelte sich bis 1944 zur größten Vereinigung von Rinderzüchtern in Europa (FRIEDE, 1951, BLOECH, 1974). Das Ostpreußische Herdbuch verkaufte große Zahlen an Bullen und weiblichen Zuchtrindern in die übrigen Gebiete Deutschlands (BLOECH, 1974), denn die Leistungen der ostpreußischen Tiere waren denen der Nordwestdeutschen Rindern überlegen (FRIEDE, 1951). Der Schlag war sehr genügsam und kam mit rauen klimatischen Bedingungen, kalten Wintern und kurzen heißen Sommern, wie in Ostpreußen vorherrschend, gut zu recht (BLOECH, 1974).

Um 1860 war die Milchleistung der Landschläge des Niederungsrindes durch Einkreuzung mit englischen Rassen (v.a. Shorthorn-Rinder) stark gesunken. Daher wurde wieder auf den bewährten ostfriesischen Schlag, mit guter Milchleistung, zurückgegriffen, denn hier wurde nur sehr zurückhaltend englisches Blut eingekreuzt (HALLER, 2000).

Die Schwarz- und Rotbunten Kühe waren für ihre gute Milchleistung weithin bekannt. Das erste amerikanische Herdbuch wurde 1871 in Massachusetts (USA) eröffnet. Die friesischen Rinder wurden dort ab 1852 gezüchtet und die Population der Holstein-Friesian wurde so mit Hilfe der milchstarken Tiere der Auswanderer etabliert. Nach BECKER (1973) wurden in die USA von holländischen Kolonialisten bereits im Jahr 1621 Kühe mitgebracht, deren genaue Zahlen aber nicht vorliegen. Es wird berichtet, die im Jahr 1795 von der Holländischen Landgesellschaft eingeführten Tiere hätten die Größe von Ochsen, ihre Färbung wäre schwarz-weiß gefleckt, aber nicht gepunktet; ihre Körper seien gut aussehend, mit geraden Gliedmaßen und mittleren, eleganten Hörnern. Die Tiere machten einen ruhigen und gelehrigen Eindruck, aber der Hals war so schlank, dass er scheinbar nicht den Kopf tragen konnte (BECKER, 1973). Erst am 15. Dezember 1874 wurde in Amsterdam das „*Nederlands Rundvee Stamboek*“ gegründet. Die Friesen gründeten am 1. Mai 1879 ihr eigenes „*Fries Rundvee Stamboek*“ (FELIUS, 1995).

In Deutschland „wurde die erste offizielle Stammzuchtgenossenschaft 1876 in

Fischbek bei Altmark (Sachsen-Anhalt) gegründet“ (DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND, 2013). Zwei Jahre später wurden der Ostfriesische Zuchtverband und das „*Jeweländer Herdbuch*“ gegründet (HALLER, 2000).

In den 1960er Jahren musste Blut aufgefrischt werden, da die friesisch-holländischen Tiere sehr klein (< 125 cm Widerristhöhe) geworden waren und die Leistung gelitten hatte. Daher wurden zur Verbesserung andere umliegende Rassen eingekreuzt. In das Holländische Zuchtgebiet wurde in den 1970er Jahren eine große Anzahl tragender Holstein-Friesian Kühe aus Nordwestdeutschland importiert sowie Bullen- und Samenimporte aus der großrahmigen amerikanischen bzw. kanadischen HF-Population (FELIUS, 1995).

In Deutschland wurden ab 1965 ebenfalls die großrahmigen amerikanischen HF in die Population des Schwarzbunten und Rotbunten Niederungsrindes eingekreuzt (DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND, 2013). „Eigentlich konnte man von einer Rückkreuzung mit inzwischen modifizierten Tieren derselben Rasse sprechen“ (HALLER, 2000). Denn diese amerikanischen und kanadischen Holstein gehen auf importierte europäische Tiere zurück, die zu einem sehr großen Maß deutsche Wurzeln hatten. Diese zwischenzeitlich getrennt gezüchteten Linien der europäischen und amerikanischen Populationen wurden nach zwölf Generationen genetischer Separation wieder miteinander vermischt (ROYAL et al., 2002a). Heute besteht ein reger Austausch zwischen den Populationen der Schwarzbunten und Rotbunten Holstein Rinder und der nordamerikanischen Holstein-Friesian, aber auch ein internationaler Austausch mit anderen Ländern.

Die vorrangig im Milchtyp stehenden amerikanischen HF sind heute großrahmig und hochbeinig, während die deutlich kompakteren europäischen Schwarzbunten Tiere früher eher im Zweinutzungstyp standen (SAMBRAUS, 1991, FELIUS, 1995, HALLER, 2000). „Der Ursprüngliche Typ der Deutschen Schwarzbunten [...] ist mittelrahmig mit mittlerer Muskelfülle. Je höher der Anteil an Holstein-Friesian-Blut ist, umso großrahmiger, hochbeiniger und flacher bemuskelt sind die Schwarzbunten“ (SAMBRAUS, 2011). Gleiches gilt für Rotbunte Tiere (SAMBRAUS, 2011). Dadurch wandelte sich ab den 1960er Jahren das vorwiegend im Zweinutzungstyp stehende Schwarz- und Rotbunte Rind in eine der weltweit mit am milchstärksten und mit am weitesten verbreiteten Milchrasse und gleicht sehr stark dem amerikanischen Vorbild (SAMBRAUS, 2011).

Schwarzbunte und Rotbunte Deutsche Holstein sind heute in Deutschland die zah-

lenmäßig am weitesten verbreiteten Milchrinderrassen (SAMBRAUS, 2011, ADR, 2015). Inzwischen werden die Schwarzbunten und Rotbunten als gemeinsame Rasse Deutsche Holstein geführt (BRADE & BRADE, 2013, DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND, 2015).

In der DDR wurde ein eigener Schlag des „*schwarzbunten Milchrindes*“ weitergezüchtet. Da auf Grund politischer Gegebenheiten Bullenspermaimporte aus Kanada oder den USA nicht erwünscht waren, wurden polnische, schwedische und UDSSR-Bullen sowie dänische Jersey-Bullen eingekreuzt. Aber auch die ursprünglichen Tiere des Deutschen schwarzbunten Niederungsrindes blieben im Raum Cottbus erhalten (FELIUS, 1995).

3. Molekulare Marker, Genkarten und Kartierungsmethoden

In der Tierzucht wurden und werden Marker (s.u.) genutzt, um genetische Marker-Karten (s.u.) herzustellen. Nachdem es erste Karten gab, wurden diese dann auch genutzt, um die Zucht zu verbessern. Dies geschieht dadurch, dass einerseits Tiere mit krankhaften Gendefekten detektiert werden (FÜRST et al., 2015). Andererseits wird durch gezielte Zucht die Leistung der Tiere erhöht. Um eine Verbindung zwischen Gen(otyp) und Merkmal herzustellen, sind aber neben Markern auch Genkarten und Kartierungsmethoden nötig.

3.1. Molekulare Marker: SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

SNP-Marker sind molekulargenetische Marker, welche in den vergangenen Jahren zu einem gebräuchlichen Werkzeug in der Genetik wurden. Sie haben die zuvor gebräuchlichen Mikrosatellitenmarker (kurze, sich wiederholende Sequenzen) zum großen Teil verdrängt. Namentlich bezeichnet der SNP eine Variation eines Basenpaares an bekannter Position innerhalb des DNA-Strangs. Es kommt zu Abweichungen der Basen innerhalb der Allele an der Stelle des SNP-Markers. Allele sind Varianten eines Genortes (Locus) oder Gens, die durch Änderung (Mutation, Deletion, etc.) von einzelnen oder mehreren Nukleotiden entstehen. Allele kodieren für gleiche Merkmale, weisen jedoch einen geringfügigen Unterschied in ihrer genetischen Information auf, was zur Ausbildung unterschiedlicher Phänotypen (z. B. Farbe: grün oder blau) führt. Als Allele bezeichnet man somit die verschiedenen Formen, die ein Gen annehmen kann (KLUG et al., 2007). Verschiedene Allele führen somit zum Polymorphismus innerhalb der Population und sind auf Ebene der Moleküle die Ursache für die Vielgestalt der einzelnen Individuen (GROTH, 2004). Auch historische Mutationen an bestimmten Genorten (Loci) können mit den Markern nachgewiesen werden. Als Nachweismethode für einzelne Marker ist beispielsweise die Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-Methode üblich. In den letzten Jahren wurden aber SNP-Chips entwickelt (kommerzielle Anbieter sind z. B. Illumina oder Affymetrix), die es ermöglichen, gleichzeitig eine große Anzahl an Markern kostengünstig, genau und effektiv zu bestimmen. Der Österreichische Rinderzuchtverband lobt: „ab dem Jahr 2006 setzte [sich] eine weltweite Umbruchphase in der Rinderzucht in Bewegung, die Gegenwärtig andauert“ (FÜRST et al., 2015). Diese Marker können auch zu

Haplotypen (griechisch: *haplús* „einfach“, *typos* „Muster“) zusammengesetzt werden. Der Haplotyp bezeichnet die Anordnung und spezielle Kombination von Allelen innerhalb des Chromosoms. Während der sexuellen Fortpflanzung wird je ein Haplotyp von den Eltern an den Nachkommen weitergegeben. Die beiden fusionieren zu einer Zygoten bzw. einem Genotyp (GELDERMANN, 2005). Bei diploiden Organismen (wie z. B. Mensch und andere Säuger), sind somit an jedem Genort zwei Haplotypen zu finden, die als Diplotyp bezeichnet werden.

Die SNP-Chips funktionieren vereinfacht gesagt analog dem Prinzip eines Enzyme-linked Immunosorbent Assays. Verschiedene Beads (siehe Abbildung 1) sind hierzu auf einer Platte aufgebracht. An diesen sind DNA-Stränge gebunden, an denen wiederum komplementäre Stränge der Probe binden können. Nach erfolgter Bindung kommt es zu einer allelspezifischen Basenverlängerung und danach zu einer basenspezifischen Signaltransduktion, so dass detektiert werden kann, welche Base auf welchem Allel an der spezifischen Position vorliegt (GUNDERSON et al., 2005, ILLUMINA). Detaillierte Beschreibungen sind den Handbüchern der Hersteller der jeweiligen SNP-Chips zu entnehmen.

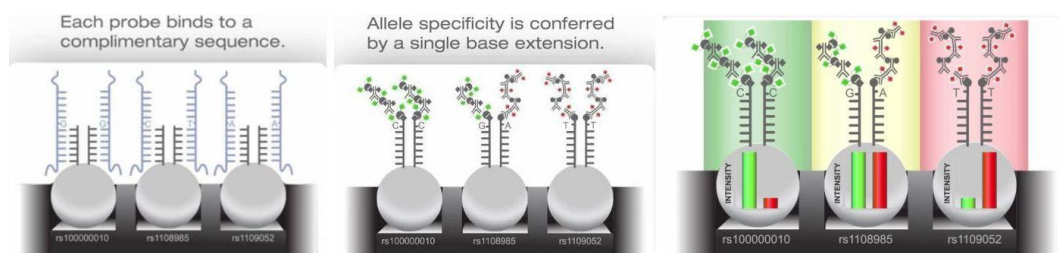


Abbildung 1: Darstellung des SNP-Chip.

Zeigt die Beads (grauer Kreis) an dem eine bestimmte DNA-Sequenz gebunden ist (schwarzer Strang). Bild links: An der Sequenz bindet jeweils die komplementäre DNA-Sequenz der Probe (grauer Strang). In der Folge (Bild Mitte), kommt es dann nach erfolgter Bindung zu einer allelspezifischen Basenverlängerung und der komplementäre Strang wird wieder abgelöst. Je nach Basenextension wird ein grünes Licht für Base C, rotes Licht für Base T oder gelbes Licht für A und G in der Auswertung empfangen (Bild rechts). Quelle: Screenshots aus der YouTube Filmsequenz von Illumina: <https://www.youtube.com/watch?v=1VG04dAAyvY>

3.2. Genkarten

Genkarten geben die Abfolge der Gene im Genom wieder. Sie werden unterschieden in genetische und physikalische Karten.

Bei der genetischen Genkarte (Kopplungskarte mit Kopplungsmarkern) werden die Abstände relativ zueinander festgehalten. Die Werte werden in Centimorgan (cM) angegeben. Ein cM entspricht hierbei einer Rekombinationswahrscheinlichkeit von einem Prozent pro Meiose. Dies meint, dass bei jeder hundertsten Meiose eine Rekombination auftritt. Je weiter zwei Loci voneinander entfernt

sind, desto höher ist ihre Chance der Rekombination (MORGAN, 1911). Diese Form der Kartierung ist zwar in der Lage, die Position der Gene relativ zueinander anzugeben – deren Reihenfolge und ungefähren Abstand – nicht jedoch die genaue Position, an der sie liegen; dafür wird eine physikalische Genkarte benötigt. Andererseits, da die Rekombinationsrate nicht gleichmäßig entlang des Genoms verteilt ist (LICHTEN & GOLDMAN, 1995, KONG et al., 2002, HEY, 2004), wie die Hotspots zeigen, ist eine präzise genetische Genkarte für viele Kartierungsmethoden von großer Bedeutung. Hotspots sind Orte oder auch ganze Regionen, an denen die Frequenz an meiotischen Rekombinationen höher als üblich ist (LICHTEN & GOLDMAN, 1995). Für viele Spezies (inklusive Rind) gibt es keine präzise, genetische Genkarte für eng gekoppelte Marker (d. h. SNP); daher wird vorläufig eine physikalische Genkarte als Surrogat (=Ersatz) in Kartierungsansätzen genutzt.

Die physikalische Genkarte gibt den Abstand und die Position als absoluten Wert in Basenpaaren (bp) an (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007). Der grobe Richtwert für kleine Distanzen, dass 1 cM etwa 1 Megabasenpaar (Mbp) entspricht (BICKEBÖLLER & FISCHER, 2007), wird ergänzt durch die Arbeit von WENG et al. (2014), die für das Rind einen auf UMD 3.1 basierenden Umrechnungsfaktor von 1,23 cM/Mbp genomweit publizierten, der derzeit angenommen wird. Dieser variiert zwischen 1,02 cM/Mbp auf Chromosom 20 und 1,71 cM/Mbp auf Chromosom 23. Für verschiedene Spezies kann die Umrechnung deutlich unterschiedlich sein. Beim Menschen werden genomweit 1,19 cM/Mbp angegeben, wobei die genetische Länge beim Mann bei 2.590 cM und bei der Frau bei 4.281 cM liegt und somit unterscheidet sich die Rekombinationsrate um einen Faktor von 1,65 (KONG et al., 2002). Hingegen liegt bei anderen Lebewesen, wie der Honigbiene, der Umrechnungsfaktor genomweit bei etwa 20 cM/Mbp (BEYE et al., 2006: 19 cM/Mbp, SOLIGNAC et al., 2007: 22,04 cM/Mbp). Um eine physikalische Genkarte erstellen zu können, muss der entsprechende Abschnitt oder das ganze Genom sequenziert sein.

3.3. Arten von genetischen Markern

Unabhängig davon, ob es sich bei Markern um SNP oder Mikrosatelliten handelt, können drei Arten von Markern nach DEKKERS (2004) unterschieden werden:

1. Direkte Marker: Loci, die für eine funktionelle Mutation kodieren
2. LD-Marker: Loci, die sich in einem populationsweiten Kopplungsun-

gleichgewicht (*linkage disequilibrium*, LD) mit der funktionellen Mutation befinden

3. LE-Marker: Loci, die sich in einer Population in einem populationsweiten Kopplungsgleichgewicht (*linkage equilibrium*) mit der funktionellen Mutation befinden

Sowohl LD- als auch LE-Marker finden bei der Kartierung von QTL Verwendung.

3.4. QTL (Quantitative Trait Loci)

Quantitativ Trait Loci (QTL) sind „merkmalsbeeinflussende Genorte“ (KANITZ et al., 2008). Als quantitativ werden sie bezeichnet, da sie im Gegensatz zu qualitativen Merkmalen, wie z. B. der Fellfarbe, nicht einer bestimmten Kategorie (Bsp.: Schwarzbunt oder Rotbunt) entsprechen, sondern ein kontinuierliches Merkmal beeinflussen. So wird z. B. die Fruchtbarkeit nicht von einem QTL allein, sondern von vielen QTL beeinflusst. Nur wenn die Merkmale exakt, objektiv und präzise phänotypisiert sowie möglichst in ihre Untereinheiten zerlegt wurden, ist auch eine genaue Erfassung der ursächlichen Geneffekte möglich (SWALVE, 2003). Eine unpräzise Bestimmung der Phänotypen vergrößert zusätzlich die Umweltvarianz und beeinflusst somit die QTL-Kartierung. So könnte es in deren Berechnung zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen kommen. Quantitative Merkmale zeigen eine kontinuierliche Verteilung von phänotypischen Werten, während qualitative Merkmale diskrete, sich gegenseitig ausschließende Werte annehmen (ANDERSSON, 2001). Einen QTL zu kartieren, hängt von der Größe seines Einflusses auf das Merkmal sowie von der Struktur und Größe des zur Verfügung stehenden Tiermaterials ab (GELDERMANN, 1975) und auch wie präzise die festgestellten Phänotypen das Merkmal beschreiben (SEIDENSPINNER et al., 2009).

3.4.1. Linkage

Linkage ist die englische Bezeichnung für ‚Kopplung‘. Hier bezieht sich der Begriff auf die Kopplung der Genloci miteinander. Sie werden während der Meiose getrennt oder nichtgetrennt an die Nachkommen weitervererbt (BAILEY-WILSON & WILSON, 2011). Kopplung verletzt die dritte Mendel'sche Regel (Unabhängigkeitsregel); dies wurde schon Anfang des 20. Jahrhunderts von verschiedenen Forschern herausgefunden (z. B. SUTTON, 1903). Gekoppelte Merk-

male werden nicht unabhängig vererbt. Der sogenannte „Hitchhiking-Effekt“ kann zur Kopplung von Genen führen. Die Homozygotie an dem selektierten Locus führt auch zu Homozygotie in flankierenden Regionen (MAYNARD SMITH & HAIGH, 1974). Es kommt somit vor, dass ein weiteres Gen als „Trittbrettfahrer“ gekoppelt mitvererbt wird, ohne dass auf dies Merkmal explizit selektiert wurde, sondern weil es örtliche Nähe aufweist.

Dieses *Linkage* kann berechnet werden und dient somit zur Detektion interessanter Gene. Eine grobe Detektion eines QTL kann mit der *Linkage*-Methode erfolgen. *Linkage* zwischen Markern wird auf genomweiter Basis durch ein Drei-Generationen-Versuchsdesign oder durch Analyse von großen Halbgeschwisterfamilien festgestellt. Für solche Genomscans sind relativ grobmaschige Markerdichten innerhalb der Karten ausreichend (ANDERSSON, 2001), mit Abständen zwischen 15 und 50 cM (DARVASI & SOLLER, 1994). Für eine genauere Kartierung von QTL (Feinkartierung) wird eine dichtere Markerkarte und historische Rekombination bzw. das *Linkage Disequilibrium* (LD) verwendet.

3.4.2. Linkage Disequilibrium

Das LD fällt schnell ab, wenn sich der Abstand zwischen Marker und QTL erhöht (GODDARD & HAYES, 2009). Traditionellerweise wurde das *Linkage* bei der Kartierung dazu verwendet, einen QTL einer großen Region zuzuordnen, und wurde dann mittels LD feiner kartiert (GODDARD & HAYES, 2009). Dies ist jedoch nur möglich, wenn die Marker sehr eng an den QTL gekoppelt sind und gleichmäßig über das Genom verteilt sind. DEKKERS (2004) gibt vor zehn Jahren hier einen maximalen Abstand der Marker zwischen 1 und 5 cM an, je nach Ausmaß des LD, welches von Populationsstruktur und Historie abhängig ist. Die heute gebräuchlichen 50K-Chips (BOVINESNP50 BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA) haben einen durchschnittlichen Markerabstand von 0,0494 Mbp. Eine höhere Markerdichte wird empfohlen (PÉREZ O'BRIEN et al., 2014), da sie die Präzision der Kartierung steigert. Die inzwischen verfügbaren High Definition (HD)-Chips (BovineHD, BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA) bringen es sogar auf einen durchschnittlichen Markerabstand von 0,003 Mbp. LD-Marker müssen somit im Vergleich zu den *Linkage* Markern näher an der funktionellen Mutation liegen. „Ein Kopplungsungleichgewicht oder allelische Assoziation liegt vor, wenn zwei Allele an zwei benachbarten Genorten häufiger gemeinsam vererbt werden, als dies durch Zufall in einer Population zu erwarten wäre“ (MURKEN et al., 2006).

3.5. Kombinierte *Linkage Disequilibrium* – *Linkage* Analyse (*cLDLA*)

Die *cLDLA* ist die Kombination der Berechnung von LD und *Linkage*. FARNIR et al. (2002) und MEUWISSEN et al. (2002) beschreiben die Verwendung der Methode zeitgleich und sogar in der selben Journalausgabe. Das Design ist geeignet, bei einer großen Anzahl an Familien, mit nur wenigen Informationen über vorherige Generationen, eine höhere Genauigkeit zu erreichen, als wenn viele Pedigree-Informationen zu nur wenigen Tieren vorliegen (LEE & VAN DER WERF, 2004). Die *cLDLA* ist in der Lage, die komplexen Verwandtschaftsstrukturen effektiv zu nutzen und führt somit zu einer feineren und leistungsstarken Kartierung. Da heute zu vielen Bullen genetische Informationen vorliegen (Chip-, oder Sequenzdaten), aber nicht für viele der Vorfahren (oft nur ein Verwandter), ist dieses Design sehr geeignet. Durch Verwendung einer hohen Markerdichte liegt ein starkes Kopplungsungleichgewicht von historischen Rekombinationen zwischen benachbarten Markern vor. Somit ist der Verlust durch fehlende Pedigree-Informationen zu vernachlässigen und das vorliegende Kartierungsergebnis trotzdem sehr genau (LEE & VAN DER WERF, 2005). Bereits vor 10 Jahren stellten LEE und VAN DER WERF (2005) dies für Markerabstände von ~ 1 cM fest, die nach heute realisierbaren Stand der Technik als recht grobmaschig zu bezeichnen sind. Mit der heutigen möglichen Auflösung der 50K-Chips (Durchschnittliche Lücke zwischen Markern: $0,0494 \text{ Mbp} \times 1,23 \text{ cM/Mbp} = 0,061 \text{ cM}$) oder sogar HD-Chips (Durchschnittliche Lücke zwischen Markern: $0,003 \text{ Mbp} \times 1,23 \text{ cM/Mbp} = 0,0037 \text{ cM}$) ist die Markerdichte sogar noch vielfach erhöht worden und oben angegebenes Kriterium (~ 1 cM) wird deutlich unterschritten.

3.6. GWAS (Genomweite Assoziationsstudie)

Ziel von Genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) ist es, bestimmte genetische Variationen (d. h. SNP-Genotypen) mit bestimmten Merkmalen zu assoziieren. Es wird nach genetischen Markern gesucht, deren Verteilung der Genotypen am besten die Verteilung der phänotypischen Ausprägungen der untersuchten Merkmale wiedergeben. Somit lassen sich durch die Assoziationen Aussagen darüber treffen, wo am Chromosom sich vermutlich Regionen befinden, die die diversen Parameter der Fruchtbarkeit oder eines anderen Merkmals beeinflussen (HAYES & GODDARD, 2010).

4. Zuchtwertschätzung

4.1. Rechtliche Grundlage

Die Zuchtwertschätzung in der Bundesrepublik Deutschland unterliegt der Aufsicht staatlicher Organe der Bundesländer. Um die Zuchtwerte, hier im speziellen für HF, in Deutschland bundesweit vergleichen zu können, erfolgt für alle Bundesländer eine bundesweite Zuchtwertschätzung durch das VIT in Verden, wobei die Daten von den verschiedenen Verbänden innerhalb der Länder und den diversen Kontrollverbänden geliefert werden (VIT, 2014).

4.2. Zuchtwertschätzung in Deutschland für Holstein-Friesian

Traditionell erfolgt die Zuchtwertschätzung auf Grund der Leistungsdaten der Nachkommen eines Bullen. Die Leistungsdaten der Bullen wurden zunächst nur durch Anpaarung geprüft (ADR, 2006). Dazu wurden als geeignet erscheinende Jungbullen angekauft, als Testbullen in die Besamung eingebracht und dann ihre Leistung anhand der Töchterleistungen überprüft. Bis die Nachkommen herangewachsen waren und ihre Leistungsparameter zur Verfügung standen, war der Bulle oft schon geschlachtet. Von der Geburt des Bullen bis zum Zeitpunkt, an dem die Zuchtwerte des Tieres geprüft und berechnet werden konnten, vergingen mindestens 5-6 Jahre.

Im August 2010 wurde offiziell die genomische Zuchtwertschätzung in Deutschland für Schwarz- und Rotbunte Holstein Rinder durch das VIT eingeführt (VIT, 2015). Hier fließen alle Informationen zusammen, werden gebündelt verarbeitet und es kann auf große Erfahrung zurückgegriffen werden. Inzwischen wird die klassische Zuchtwertschätzung mit der genomischen Zuchtwertschätzung kombiniert. Um dies mit hoher Sicherheit durchzuführen, wurde in Zusammenarbeit mit Frankreich, den Niederlanden, Spanien und Viking Genetik (für Dänemark, Finnland und Schweden) die EuroGenomics gegründet. Diese verfügt über die weltweit größte Lernstichprobe, welche nicht nur die europäische, sondern auch die amerikanische Holstein Genetik repräsentiert (VIT, 2014). Aktuell beinhaltet die Stichprobe über 28.000 KB-Bullen (VIT, 2015). Der direkte genomische Zuchtwert wird durch 50.000 genomweit verteilte SNP (50K-Chip, Illumina) ermittelt, deren Position bekannt ist. Heute wird der genomische Zuchtwert mit dem klassischen Zuchtwert zum genomisch unterstützten Zuchtwert kombiniert; dies stellt den offiziell veröffentlichten Zuchtwert dar (VIT, 2014).

Im Allgemeinen sind Zuchtwerte so definiert, dass 100 das Mittel darstellt (VIT, 2014). Werte über 100 repräsentieren eine Verbesserung des Zuchtfortschrittes.

Den Stellenwert der genomischen Zuchtwertschätzung verdeutlicht die Praxis, denn „die Mehrzahl der Besamungen wird inzwischen mit jüngeren Bullen durchgeführt, die nur genomische Zuchtwerte aber noch keine Töchterinformationen haben“ (VIT, 2015). Auf Grund der großen EuroGenomics-Referenzpopulation ist es inzwischen möglich, für junge Bullen mit einer Sicherheit von 65 - 75 % genomische Zuchtwerte für Milchleistungsmerkmale zu schätzen. Die älteren Bullen (mit Nachkommensleistungsprüfung) kommen schließlich auf Sicherheiten bis zu 90 % (REENTS et al., 2011).

Für die Zuchtwertschätzung von Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmalen, wie in der vorliegenden Arbeit verwendet, wurden alle Belegungen ab 1995 (Fruchtbarkeitsmerkmale) bzw. 2000 (Kalbmerkmale) verwendet und alle Merkmale bis einschließlich der dritten Kalbung und Laktation berücksichtigt. Die Schätzung erfolgt jeweils über BLUP (Best Linear Unbiased Prediction)-Mehrmerkmals-Tiermodelle, in die unter anderem diverse fixe Effekte wie beispielsweise Herde, Jahr oder Region einfließen. Geschätzt werden die Fruchtbarkeitsmerkmale Rastzeit (RZ), Non-Return-Rate (56 d) für Rinder (NR56R) und Kühe (NR56K), Verzögerungszeit der Rinder (VZR) und der Kühe (VZK), die dann auch zusammengefasst als Töchterfruchtbarkeitsindex Reproduktion veröffentlicht werden. Bei diesem wird dann die RZ mit 25 % gewichtet, um die Zyklusfähigkeit zu beschreiben. Die restlichen 75 % beschreiben die Konzeptionsfähigkeit. Diese 75 % werden nicht zu gleichen Teilen gewichtet, sondern mit einem Anteil von jeweils 25 % für NR56K und VZK sowie jeweils 12,5 % für NR56R und VZR einbezogen. Die geschätzten Kalbmerkmale, Kalbeverlauf und Totgeburt, jeweils paternalen und maternalen Ursprungs, werden im Kalbeindex für paternal und auch maternal in der Gewichtung von jeweils 50 % auf Totgeburtenrate und Kalbeverlauf zusammengefasst um eine praktische Selektion zu vereinfachen. Da Kalbprobleme gehäuft während der ersten Abkalbung auftreten, ist aus züchterischer Sicht besonders die Selektion von Bullen wichtig, die für die Besamung von Färssen geeignet sind (VIT, 2014).

5. Fruchtbarkeit

PRYCE et al. (2004) definieren Fruchtbarkeit als die Fähigkeit eines Tieres zu konzipieren und die Frucht zu erhalten, wenn es zu einem passenden Zeitpunkt besamt wurde.

Im Bereich der Milchrinderzucht hat heute die Künstliche Besamung (KB) eine herausragende Stellung eingenommen. Der enorme Stellenwert der KB im Milchviehbereich spiegelt sich in den Besamungszahlen wieder. So wurden für das Jahr 2014 in Deutschland 8.402.561 Besamungen insgesamt registriert, darunter 4.306.525 Erstbesamungen von denen 4.107.912 auf Erstbesamungen an Milch- und Zweinutzungsrassen entfielen. Hier machen die Schwarzbunten Holsteins mit 2.052.361 den größten Anteil aus. Die Rotbunten Holsteins wiesen 342.446 und das Fleckvieh als zahlenmäßig zweitgrößte Rasse 1.511.032 Erstbesamungen auf (ADR, 2015).

Um ein Tier erfolgreich künstlich zu besamen, muss das Tier auch sexuell aktiv sein und die Paarungswilligkeit erkannt werden. Im Falle der Färse, muss die sexuelle Aktivität bereits erreicht sein und das Tier aktuell in Brunst sein. Färsen werden üblicherweise zwischen dem 15. und 18. Monat erstmals besamt, teilweise müssen weitere Besamungen erfolgen, sodass sie dann nach einer rasseabhängigen Tragzeit von durchschnittlich 285 Tagen, mit durchschnittlich 27 bis 29 Monaten erstmals kalben (ADR, 2015). Nach Ablauf einer freiwillig festgesetzten Wartezeit (idealerweise 60 Tage) werden sie erneut besamt, insofern sie physiologisch schon wieder *Corpus luteum* (CL)-Aktivität aufweisen. In der Regel findet die Besamung in der zweiten oder dritten Brunst nach der Abkalbung statt. Dies ist abhängig davon, ob und wann das Tier erneut in Brunst erkannt wird (durch Personal oder Stier, je nach Haltung). Nun sollte die Kuh wieder konzipieren und dabei den Embryo/Fetus über die Zeit bis zur physiologisch anstehenden Geburt erhalten können. Nach einer physiologisch ablaufenden Geburt beginnt der Kreislauf von neuem.

6. Störungen der Fruchtbarkeit

Die Störungen der Fruchtbarkeit sind mannigfaltig, daher können hier nur stellvertretend einige der häufigeren Ursachen bzw. Probleme besprochen werden.

Zwar sind viele der Ursachen und Probleme nicht genetisch und somit für die vorliegende Arbeit weniger relevant. Jedoch sollte aus tiermedizinischer Sicht sowohl die Kuh als Ganzes gesehen werden, als auch die Fruchtbarkeitsprobleme in ihrer Gesamtheit betrachtet werden. Aus diesem Grund wird nachfolgend ein Überblick über die wichtigsten krankheitsbedingten genetischen und auch kurz über die sonstigen Ursachen für das Absinken der Fruchtbarkeit gegeben.

6.1. Der Einfluss von Schwankungen im Body-Condition-Score auf die Fruchtbarkeit

Der Body-Condition-score (BCS) nach EDMONSON et al. (1989) ist ein gängiges Maß um die Körperkondition der Kühe zu beurteilen. Beurteilt wird das Tier an mehreren definierten Stellen durch einen Beobachter um die körperliche Verfassung möglichst exakt zu beschreiben. Danach wird dem Tier in der Regel ein Wert zwischen 1 (sehr mager) und 5 (adipös) zugeordnet.

Bei Tieren mit einem hohen BCS kommt es bei hoher Milchleistung zu übermäßigem Abbau von Fettgewebe nach der Kalbung (Lipomobilisation) um ein Energiedefizit auszugleichen. Jede Einheit mehr im BCS (Skala von 1 - 5) nach EDMONSON et al. (1989) führt zu einer Verzögerung der lutealen Aktivität um 2,7 Tage (ROYAL, 1999). Weitere Untersuchungen bezüglich des den BCS (mit einer weiter unterteilten BCS-Skalierung von 1 – 9) führen je Einheit zu einer Depression der CL-Aktivität um 22,4 %. Dies entspricht bei der BCS-Skala etwa 6 Tagen (ROYAL et al., 2002b). RÖMER (2011) stellt fest, dass „Kühe mit hohen Körpermasseabnahmen p.p., also mehr als 30 kg innerhalb der ersten fünf Laktationstage, [...] krankheitsanfälliger“ waren und „bis zum 30. Tag p.p. zweimal mehr behandelt [wurden] als Kühe mit geringerem Körpermasseverlust.“ Dies zeigt, dass eine zu gute Körperkondition, repräsentiert durch einen hohen BCS, offenbar tendenziell eher als krankmachend bezeichnet werden kann.

6.2. Fruchtbarkeit contra Milchleistung?

Dass die Milchleistung der Tiere in der Vererbung generell in Konkurrenz zur Fruchtbarkeit steht, wurde vielfach berichtet (z. B. NEBEL & MCGILLIARD, 1993, PRYCE et al., 1997, ROYAL et al., 2002a, SWALVE, 2003, PRYCE et al.,

2004). Jedoch stellen BELLO et al. (2012) fest, dass dies so nicht generalisiert werden kann, und weisen insbesondere auf Unterschiede zwischen Trends in Herden (bezüglich Fruchtbarkeits- und Milchleistungsmerkmalen) hin, die in den Einzeltieren völlig gegensätzlich sein können.

BIERSTEDT et al. (2015) untersuchten Milchleistung und Fruchtbarkeit auf Herdenbasis in HF und konnten im ihnen vorliegenden Datenmaterial von 73 Betrieben nicht feststellen, dass Betriebe mit einer hohen Milchleistung eine schlechtere Fruchtbarkeit aufweisen. Auf den Betrieben (mit vergleichsweise besserer Leistung) ist das Management generell soweit optimiert worden, dass die Kühe zu solchen Leistungen fähig sind. Verglichen mit Betrieben, die eine deutlich geringere Fruchtbarkeits- und Milchleistung erzielen, zeigt dies, was die Tiere unter optimierten Bedingungen zu leisten vermögen. Die Schlussfolgerung liegt somit nahe, dass HF-Betriebe mit einem optimierten Management der Tiere, also mit optimal gefütterten, gesunden (gesünderen) Kühen, die besser betreut und intensiver beobachtet werden, eine höhere Fruchtbarkeit erreichen (LUCY, 2001). RAUW et al. (1998) stellen fest, dass Kühe, die auf hohe Milchleistung gezüchtet wurden, eine längere Güstzeit, ein längeres Zwischenkalbeintervall und eine geringere Non-Return-Rate 56 d aufwiesen, also mehr Besamungen notwendig waren bis sie erneut trächtig waren. Ebenfalls berichten NEBEL und MCGILLIARD (1993), den Trend erkannt zu haben, dass für Tiere nach 1975 öfter eine antagonistische Beziehung der Phänotypen (Milchleistung contra Fruchtbarkeit) berichtet wurde, nicht jedoch vor 1970. Dies weist darauf hin, dass möglicherweise eine kritische Schwelle der Milchleistung überschritten wurde (LUCY, 2001) oberhalb der die Fruchtbarkeitsleistung eine Depression erfährt. Im Vergleich zu laktierenden Kühen (46,9 %) haben Färsen sehr hohe Erstbesamungserfolge von 70,3 % (ZELFEL, 2008; weitere Daten siehe Kapitel 7.1). Dies führt zur Annahme, dass die Fruchtbarkeitsdepressionen der Kühe auf die Folgen von Geburt und Laktation zurückzuführen sind (LUCY, 2001). STEVENSON (2000) berichtet, dass die vergleichsweise gering laktierenden amerikanischen Fleischrinder eine um 20 % erhöhte Konzeptionsrate aufweisen, verglichen mit amerikanischen HF. Auch aus den Daten von MACMILLAN et al. (1996) geht hervor, dass HF in Neuseeland, die im Vergleich zu den amerikanischen Tieren eine geringe Milchleistung aufweisen, eine wesentlich bessere Fruchtbarkeit zeigen. Dies bestärkt die von LUCY (2001) aufgestellte These, dass es eine minimale Milchproduktionsschwel-

le gibt, nach deren Überschreitung die Fruchtbarkeit absinkt. Mit etwa 20 kg ist die Milchproduktion der Tiere wesentlich geringer, sie produzieren aber einen höheren Fett- und Proteinanteil in der Milch und sind fruchtbarer im Vergleich zu amerikanischen HF. Es handelt sich bei den extensiv gehaltenen neuseeländischen HF Tieren um einen wesentlich kleineren, leichteren und extensiv gehaltenen Schlag, verglichen mit den in Nordamerika verbreiteten HF Tieren (HARRIS & KOLVER, 2001).

6.3. Östrus Expression und Dauer

Hinsichtlich der relativ schlechten Fruchtbarkeit ist eine der wichtigsten und einfachsten Maßnahmen, die der Landwirt im Betrieb selbst kurzfristig umsetzen kann, – neben der langfristigen Verbesserung der Zuchtauswahl – die rechtzeitige Erkennung des Östrus durch optimale Brunstbeobachtung. Dies ist für die Festlegung des Besamungszeitpunkts essentiell. Denn DRANSFIELD et al. (1998) berichten, dass etwa ein Viertel aller Tiere einen Östrus mit geringer Intensität ($< 1,5 \times$ stehen/Stunde) und von kurzer Dauer (< 7 Stunden) hatte. Der durchschnittliche Östrus wird dort mit einer Dauer von etwa 7 Stunden bei einer Intensität von $8,5 \times$ stehen/Stunde angegeben. Ein signifikanter Einfluss des Genotyps auf die Zykluslänge wurde festgestellt, wobei eine längere Dauer und mehr Follikelwellen mit schlechterer Fertilität assoziiert wurden (CUMMINS et al., 2012). Ebenfalls konnte eine Interaktion des Genotyps der positiv mit Fruchtbarkeit assoziierten Kühe mit der Östradiol-Konzentration des Blutes beobachtet werden (CUMMINS et al., 2012). Auch war die Expression der Brunst in Tieren mit einem Genotyp für positive Fruchtbarkeit signifikant höher (CUMMINS et al., 2012).

Bei einer früher propagierten Beobachtungszeit von 30 Minuten, zweimal täglich, wird es schwer, die Brunst der Tiere zu erkennen. Wenn nicht eine verbesserte Brunsterkennung stattfindet oder Hilfsmittel (Pedometer, Brunsterkennungssysteme etc.) eingesetzt werden, bleibt folglich ein zu großer Teil der brünstigen Tiere unerkannt. Als das geeignetste Brunsterkennungssystem stellen FIRK et al. (2002) in ihrem Review über Brunsterkennungssysteme das Pedometer dar, mit einer Brunsterkennungsrate zwischen 68 % bis 100 %, einer Fehlerrate zwischen 17 % und 55 % und einer sehr hohen Spezifität (> 96 %).

Nach STEVENSON (2000) hat sich das Durchschnittsintervall bis zur ersten Ovulation p.p. um etwa 10 Tage verlängert und damit auch der Anteil der anöstrischen Kühe, der darin eingerechnet ist. Wie DE VRIES und VEERKAMP (2000) be-

richten, sind jedoch nur drei bis vier Prozent der Variation im Intervall der ersten Ovulation durch die negative Energiebilanz zu Laktationsbeginn erklärbar. Dies lässt den Schluss zu, dass andere additive Faktoren die Fruchtbarkeit stark beeinflussen.

6.4. Häufige Erkrankungen nach dem Kalben bis zur erneuten Trächtigkeit

Bezüglich der Produktivität eines Milchviehbetriebs ist es das primäre Ziel, dass jedes Tier nach der Abkalbung möglichst schnell wieder in Brunst kommt und erneut konzipiert (in der Regel wird vom Landwirt eine freiwillige Wartezeit von etwa 60 d festgesetzt, nach der erstmals besamt wird). Nur so lässt sich möglichst effizient wirtschaften. Durch Probleme bei der Abkalbung und/oder Krankheiten p.p. kann die Fruchtbarkeit gestört sein. Eine mögliche Ursache ist beispielsweise Kalziummangel (Gebärparese, Milchfieber), wodurch die Kuh festliegend werden kann (GOFF & HORST, 1997, MARTÍN-TERESO & MARTENS, 2014). Das Festliegen führt zu verringerter Nahrungsaufnahme, die wiederum zur Ketose führen kann (unter Umständen auch subklinisch). Die Ketose kann aber auch ohne Kalziummangel auftreten, dadurch dass die Kuh nicht genügend Energie aufnimmt oder nicht aufnehmen kann. Weil der Energieverlust durch die Milchbildung sehr hoch ist, mobilisieren diese Tiere Fett, welches in der Leber dann als Energie für den Stoffwechsel bereitgestellt wird (GOFF & HORST, 1997). Weitere Probleme entstehen bereits bei der Geburt, wenn Keime in den Geburtsweg gelangen. Diese können dann zu Metritiden, Perimetritiden, Parametritiden oder Endometritiden führen. Metritiden treten nach der Abkalbung gehäuft auf und werden vor allem durch unsachgemäße Geburtshilfe begünstigt. Ihre Definitionen richten sich nach SHELDON et al. (2006). Begünstigt werden Fruchtbarkeitsprobleme ebenfalls durch Nachgeburtverhalten der Kühe, so sind beispielsweise 70 % der Fertilitätsbehandlungen in den ersten 30 Tagen p.p. gefunden worden. Fruchtbarkeitsstörungen stellten mit 25 % den zweithäufigsten Behandlungsgrund (RÖMER, 2011) und den häufigsten Grund für eine Merzung dar (VIT, 2015). Die Infektion des Uterus führt zwar zu einer späteren ersten Besamung, jedoch ist der Erstbesamungserfolg nicht durch die Infektion beeinträchtigt (ROYAL et al., 2002a).

Die Zunahme der Milchproduktion ist ein Risikofaktor für zystische Ovarien und diese wiederum Risikofaktor für Unfruchtbarkeit (HEUER et al., 1999, GRÖHN

& RAJALA-SCHULTZ, 2000). Wie GARVERICK (1997) in seinem Review berichtete, wurden bei 10 bis 13 % aller amerikanischen Holstein-Kühe Zysten festgestellt. Mit zunehmender Etablierung des Ultraschalls konnte festgestellt werden, dass jedoch weniger als 5 % der Tiere Zysten auf den Ovarien tragen (STEVENSON, 2012). Die Heritabilitäten für zystische Ovarien liegen bei moderaten Werten mit maximal 0,43 in Milchkühen; durch Selektion gegen zystische Ovarien konnte in Schweden die Inzidenz von zystischen Ovarien deutlich reduziert werden (STEVENSON, 2012). Plazentaretention wurde zwar als einziges Merkmal genetisch negativ korreliert mit der Milchleistung festgestellt (VAN DORP et al., 1998). Da die Korrelation zwischen der Milchleistung und Krankheitsmerkmalen (unter anderem Ketose, Milchfieber, zystische Ovarien) nur niedrig bis moderat hoch war, legt ein Ignorieren der Beziehungen, langfristig gesehen, eine Verschlechterung der Genotypen und Phänotypen nahe und beeinflusst somit langfristig negativ die Zucht und Leistung (VAN DORP et al., 1998).

7. Genetische Einflüsse auf die Fruchtbarkeit

Fruchtbarkeit bei Milchkühen ist ein ökonomisch wichtiges Merkmal in der Milchviehwirtschaft, jedoch ist aufgrund teilweise unvollständiger Datenaufzeichnungen die genetische Bewertung der Fertilität manchmal schwer abzuschätzen (POTGIETER, 2012). Aufzeichnungen werden oft nur zum Zweck der Berechnung des nächsten Kalbetermins durchgeführt und vorhergehende Besamungen seitens der Landwirte dann oft nicht dokumentiert (PRYCE et al., 2004). Doch die Masse der Daten und die von den Zuchtorganisationen angesetzten Kriterien zur Verwendung der Daten gleicht diesen Nachteil wieder aus. Im Folgenden werden die Effekte von Inzucht, Kopplung und Pleiotropie dargestellt, sowie beispielhaft bisherige Studien zu Kalbe- und Fruchtbarkeitsproblemen in HF.

7.1. Inzuchtanstieg und Fruchtbarkeitsabfall

Inzucht bezeichnet die Paarung von zwei nahe verwandten Individuen. „Als Konsequenz fortgesetzter Inzucht wird man in einer Population eine Zunahme an Homozygoten und eine Abnahme an Heterozygoten feststellen“ (STORCH et al., 2013).

Inzucht ist eines der bekanntesten Probleme bei der Zucht. Sie führt oft zur Manifestation ungewünschter Eigenschaften (STORCH et al., 2013), wenngleich Inzucht auch gewünschte Eigenschaften fixieren kann. Denn nicht nur der Inzuchtkoeffizient, auch die Milchleistung stieg in den USA seit 1980 stark an, da die milchstarken Tiere verpaart wurden (LUCY, 2001). HERMAS et al. (1987) stellten Aufzeichnungen über Guernsey Rindern zu Produktion und Reproduktion über den Zeitraum von 1958 – 1981 in einen Vergleich dem Inzuchtkoeffizienten der Population gegenüber. Ihre Ergebnisse decken sich, nach eigenen Angaben, mit denen anderer Forscher und auch mit Ergebnissen für HF-Tiere der Zeit. Das Ansteigen des Inzuchtkoeffizienten um 1 % führt zu:

1. Anstieg der Besamungen pro Konzeption um 0,17
2. Verlängerung der Güstzeit um 2 Tage
3. Abfall der Konzeptionsrate um 3,3 %-Punkte

Durch die Zucht der letzten Jahre hat sich die Inzuchtrate der amerikanischen HF von 1 % um 1980 auf durchschnittlich 5 % im Jahr 2000 vergrößert (HANSEN, 2000). VANRADEN et al. (2011) stellt in einem Datensatz von 25.219 amerikanischen HF-Bullen (geboren ab 1990) einen durchschnittlichen Inzuchtkoeffizienten

von 5,5 ($\pm 1,9$) fest. Im amerikanischen Staat New York sank der Erstbesamungserfolg von 66 % in 1951 auf ungefähr 30 % in 2001 (BUTLER, 2014). Bereits 1996 war die Konzeptionsrate für die erste Besamung in amerikanischen HF (Kentucky) auf 34 % gefallen im Vergleich zu noch 62 % im Jahr 1972 (SILVIA, 1998).

In Europa ist die Fruchtbarkeitsrate noch relativ moderat. Aber auch in England, den Niederlanden und Deutschland ist ein solcher Trend erkennbar: In Großbritannien ist der Erstbesamungserfolg von 60,8 % im Jahr 1997 auf 52,3 % im Jahr 2000 abgesunken (PRYCE et al., 2004). Wobei hier vor allem der starke Abfall der Fruchtbarkeitsrate über den vergleichsweise kurzen Zeitrahmen beunruhigt. Der Erstbesamungserfolg in England fiel von 55,6 % (1975 - 82) auf 39,7 % (1995 - 98) ab (ROYAL et al., 2000). In den Niederlanden ist die Trächtigkeitsrate nach Erstbesamung von 60 % in 1992 auf 55 % in 1995 gefallen. Bis 2002 liegt die Trächtigkeitsrate weiterhin konstant bei etwa 55 - 56 %. Im gleichen Zeitraum stieg auch die Milchleistung konstant von etwa 7000 auf rund 8200 kg; die Zeitspanne zwischen Geburt und Erstbesamung stieg von 85 auf über 100 Tage an, um die Erstbesamungserfolge konstant zu halten (VAN KNEGSEL et al., 2005) und die Besamung nicht in die Phase des höchsten Energiedefizits zu Beginn der Laktation fallen zu lassen (KÖNIG et al., 2006). INCHAISRI et al. (2010) berichtet von einem Erstbesamungserfolg holländischer HF Kühe in 2006 von 44 % (zufällige Stichprobe für 51.791 Laktationen aus 1.396 Herden). ZELFEL (2008) berichtet von einem Erstbesamungserfolg von durchschnittlich 46,9 % (39 - 54 %) in Kühen (Stichprobe umfasste 2996 HF Kühe, 6195 Laktationen in 6 Betrieben Ostdeutschlands), hingegen in Färsen von 70,3 % (67 - 73 %). Damit blieb der Erstbesamungserfolg bei Färsen konstant. Von 1992 bis 2005 ist der Erstbesamungserfolg der HF-Herden in Ostdeutschland um rund 10 % gesunken (ZELFEL, 2008). Auch wurde ein einzelner Bulle gefunden, dessen Töchtergruppe bei den Färsen nur einen Erstbesamungserfolg von 52 % hatte (ZELFEL, 2008). Hier wird eindeutig die Vererbung schlechter Fruchtbarkeit durch den Einfluss einzelner Väter deutlich. KÖNIG et al. (2006) berichten, dass in 77.800 ostfriesischen HF für die Besamungsjahre 2000 - 2003 der Besamungserfolg bei 51,3 % lag. Für eine kleine Stichprobe (1841 Laktationen, 353 Kühe) aus Thüringer HF wurden ebenfalls 50 % Erstbesamungserfolg, über fünf Jahre hinweg, bestätigt (SCHOLZ et al., 2010).

Weitere Untersuchungen bezüglich der Rasse HF zeigten, dass ein Anstieg der Inzucht um 1 % zu einem Anstieg der Wahrscheinlichkeit der Schweregeburt von 0,30 % für weibliche Kälber und 0,42 % für männliche Kälber bei erstkalbenden Rindern führt. Die Wahrscheinlichkeit für Totgeburt stieg bei männlichen um 0,25 % und bei weiblichen Kälbern um 0,20 % je 1 % Inzucht für erstkalbende Rinder. Mit Zunahme der Abkalbungen sanken die Raten jedoch wieder deutlich ab (ADAMEC et al., 2006). Ebenso stimmen HINRICHS und THALLER (2011) mit ADAMEC et al. (2006) überein, dass Kälber von Kühen mit höherer Inzucht zum Geburtszeitpunkt schwerer sind und daher mehr Probleme während des Kalbens verursachen. Ebenso führt Inzucht zu negativen Auswirkungen auf die Konzeption sowie das Überleben der Embryonen (VANRADEN & MILLER, 2006).

7.2. Kopplung von Milch- und Fruchtbarkeitsproblemen mit negativer Wechselwirkung

Es muss kritisch bedacht werden, dass Trends, die Herden in den Studien zeigen, nicht einfach auf das Einzeltier übertragen werden können. Der generelle Antagonismus zwischen Milchleistung und Fruchtbarkeit kann so nicht aufrechterhalten werden und muss detaillierter untersucht werden (BELLO et al., 2012). Grundsätzlich haben Einzeltiere mit höherer Laktationsleistung keine schlechtere Fruchtbarkeit wie ihre Herdengenossen mit geringerer Milchleistung. Oft haben diese Tiere sogar eine bessere Fruchtbarkeit verglichen mit Tieren die weniger Milch geben, obwohl die Herde einen Antagonismus zwischen Milchleistung und Fruchtbarkeit auf Herdenbasis zeigt (BELLO et al., 2012). ROYAL et al. (2002a) betonen, dass ihre Untersuchungen die starke genetische Korrelation der Fruchtbarkeit mit Produktionsmerkmalen hervorheben und unterstreichen die dringende Forderung nach selektiver Züchtung auf gute Fruchtbarkeit.

BELLO et al. (2012) zeigen, dass der Zusammenhang zwischen Milchproduktion und Fruchtbarkeit auf Einzeltierebene, nicht zwangsläufig gleich sein muss wie auf Herdenebene. LEBLANC (2013) schlussfolgert sogar, dass eine Selektion auf geringere Milchleistung nicht zu verbesserter Fruchtbarkeit (der Einzeltiere) führen würde, sondern verbesserte Tiergesundheit zu einer höheren Milchleistung und Trächtigkeitsrate führen würde. Seine Arbeitsgruppe stellte fest, dass ein Anstieg der Herdenmilchleistung je 1000 kg mit einem Anstieg der Trächtigkeitsrate um 0,7 Punkte assoziiert werden kann (CAMPBELL et al., 2009). Auch die Einzeltiere, welche eine höhere Milchleistung hatten, wurden, im Vergleich zu den

Tieren mit geringerer Milchleistung, einige Tage früher trächtig. Es scheint somit nicht eine vermutete obere Milchleistungsgrenze (LUCY, 2001) zu sein die sich negativ auf die Fruchtbarkeit auswirkt.

Die folgenden Studien zeigen Ergebnisse in denen auf genetischer Basis die Fruchtbarkeit in antagonistischer Beziehung zur Milchleistung steht.

SCHULMAN et al. (2008) konnten auf *Bos taurus* Autosom (BTA)1 einen negativ gekoppelten QTL für Milchproduktions- und Fruchtbarkeitsmerkmale in Finnischen Ayrshire kartieren. Dies bedeutet, dass der gleiche Genort verschiedene Merkmale beeinflusst. Die Merkmale sind miteinander verbunden (gekoppelt) und es werden immer alle gekoppelten Merkmale zugleich beeinflusst. Bei weiteren QTL ihrer Studie gelang SCHULMAN et al. (2008) der Nachweis einer Kopplung nicht, jedoch gibt es deutliche Hinweise darauf, dass hier wahrscheinlich ebenfalls eine Kopplung (BTA5, 12, 14, 15) zwischen Fruchtbarkeits- und Milchproduktionsmerkmalen vorliegt. Aufgrund der Markerdichte und Tierzahl konnte dies aber nicht eindeutig festgestellt werden.

Auch in der dänischen HF-Population konnten von HÖGLUND et al. (2009b) in einer Folgestudie QTL gefunden werden, die für Fruchtbarkeitsmerkmale kartieren und an gleichen Stellen auch für Merkmale kartieren, die assoziiert sind mit Milchleistung oder Milchinhaltsstoffen. Ergebnisse wurden auf BTA14 (DGAT1), BTA20 und BTA26 gefunden. Somit blieben noch 12 QTL in 9 Regionen übrig, welche nur für Fruchtbarkeitsmerkmale kartierend beschrieben werden (HÖGLUND et al., 2009b).

Bezüglich der Ergebnisse der Studien von PRYCE et al. (1997) und PRYCE et al. (1998) schlussfolgerte PICKETT (2008), dass eine höhere Milchleistung genetisch korreliert ist mit einem verlängerten Zwischenkalbeintervall, einer verlängerten Rastzeit und einer reduzierten Konzeptionsrate zum Zeitpunkt der ersten Besamung.

Auch OLSEN et al. (2011) gelang es, die negative Beziehung zwischen Milchproduktion und Fruchtbarkeit auf genetischer Basis in einer Assoziationsstudie (bei Norwegischem Rotvieh) zu zeigen. Auf BTA12 wurde ein Marker für die Non-Return-Rate gefunden (negative Auswirkung), der in einer zuvor durchgeführten Kartierung ebenfalls signifikant für den Protein- und Fettgehalt der Milch war (positive Auswirkung). Somit führt die Zunahme von MilCHFett und -protein

zur Verschlechterung der Non-Return-Rate und zeigt somit die Abnahme der Fruchtbarkeit (geringerer Teil erfolgreich besamt). Da die Varianten, die zu den Merkmalen und den damit verbundenen Auswirkungen führen, bisher nicht geklärt sind, könnte neben Kopplung auch die Pleiotropie einen ursächlichen Effekt haben.

7.3. Pleiotropie

Pleiotropie bezeichnet eine vielfältige Merkmalsausprägung eines Gens (MURKEN et al., 2006). Bei einer erwünschten Merkmalsausprägung steigt die Frequenz des Merkmals durch Selektion innerhalb der Population an. Durch den sogenannten „Hitchhiking-Effekt“ kann es zu Kopplung mehrerer Gene kommen. Problematisch ist dies, wenn Homozygotie dann zu Defekten und unerwünschten Merkmalen innerhalb der selektierten Population führt, weil in den benachbarten Regionen ungewünschten Varianten angehäuft werden oder allgemein die genetische Vielfalt reduziert wird, wie Beispiele zeigen. Es lässt sich somit nicht immer eindeutig feststellen, ob die Beobachteten Effekte durch Pleiotropie oder durch Kopplung (*Linkage*) verursacht sind. Zwei eng gekoppelte QTL in einem LD könnten sich wie ein pleiotroper QTL zueinander verhalten (FREYER et al., 2004). Denn nach FALCONER und MACKAY (1996) ist die Korrelation der QTL-Effekte proportional dem Grad des LD. Eindeutig lässt sich dies erst klären, wenn die Mutation genau bekannt ist.

KADRI et al. (2014) konnten in nordischen Rotviehrassen (v.a. finnischen Ayrshire) eine negative Assoziation von Milchleistung mit Fruchtbarkeit, ebenfalls auf BTA12, feststellen. Mit Hilfe ihrer GWAS und weiterer Techniken wurde eine 660 Kilobasen lange Deletion mit antagonistischem Effekt zwischen Milchproduktion und Fruchtbarkeit gefunden. Bei Verpaarung zweier Elterntiere, die diese Mutation vererben, kommt es zum Absterben der Frucht, wenn diese homozygot für die 660 Kilobasen lange Deletion ist. Da diese Deletion aber im heterozygoten Zustand mit einer gesteigerten Milchproduktion assoziiert ist, ist der Anstieg der Frequenz der Deletion auf eine Selektion für gesteigerte Milchleistung zurückzuführen. Der Datensatz umfasste auch HF-Tiere sowie Jerseys. Jedoch konnte veranschaulicht werden, dass diese Deletion in diesen beiden Rassen nicht vorliegt und dort somit nicht für Fruchtbarkeitsprobleme verantwortlich ist.

PEÑAGARICANO und KHATIB (2012) konnten Milchproteingene mit der Fertilisationsrate und früher Embryonalentwicklung assoziieren. Sie fanden einen SNP für das Lactalbumin Alpha(LALBA)-Gen und einen SNP für das Lactoglobulin Beta(LGB)-Gen, welche Auswirkungen auf die Fertilisationsrate der Embryonen bei in-vitro Fertilisationen zeigten. Für das LGB Protein wurde noch ein weiterer SNP gefunden. Tiere, die den GG-Genotyp für diesen SNP zeigten, wiesen eine vergleichsweise verringerte Blastozystenentwicklungsrate (Genotyp GG: 0,299; GA: 0,421) auf. PEÑAGARICANO und KHATIB (2012) ziehen das Fazit, dass eine pleiotrope Wirkung des LALBA und des LGB Gens auf Fruchtbarkeitsmerkmale von Milchkühen nicht auszuschließen ist, dass aber die Umstrukturierung des Genoms beim Milchvieh durch intensive Selektion auf Produktionsmerkmale und eine Abnahme der effektiven Populationsgröße (Inzucht) in den letzten Jahrzehnten einhergegangen sein kann mit einem „Hitchhiking-Effekt“ auf eine große Anzahl von Loci, welche die Fertilität beeinflussen.

Ein weiteres Beispiel kartierten KAUPÉ et al. (2007). Das Diacylglycerol-Acyltransferase 1 (DGAT1)-Gen ist mehrfach positiv mit Milchproduktionsmerkmalen assoziiert und wurde, wie in KAUPÉ et al. (2007) gezeigt, ebenfalls negativ mit der Non-Return-Rate in deutschen HF assoziiert. Damit bestätigt sich ein weiteres Mal die genetisch antagonistische Beziehung zwischen Milchleistungsmerkmalen und Fruchtbarkeit. Dies Ergebnis zeigt deutlich, dass der Anstieg der Milchleistung mit einem Fruchtbarkeitsrückgang einhergeht. Die DGAT1-Region ist eine für Milchleistung sehr gut erforschte Region. Wobei DGAT1 sich vor allem positiv auf den Milchfettgehalt auswirkt. Dieser und auch der Proteingehalt steigen an, während die Milchmenge reduziert wird (KAUPÉ et al., 2007). Da die Molkereien Boni für höhere Fett- und Proteingehalte in der Milch zahlen, erklärt dies die Selektion auf die erwünschten Leistungen. Mögliche Ursachen für den beobachteten Effekt sind Pleiotropie oder eine gekoppelte Vererbung als sogenannter „Hitchhiking-Effekt“.

7.4. Bisherige genomweite Studien in Holstein Rindern zu Fruchtbarkeits- und Kalbproblemen

In letzter Zeit haben diverse Studien Fruchtbarkeits- und Kalbprobleme in Holstein-Friesian Rindern kartiert. Die Studien umfassen unterschiedliche Populationen auf verschiedenen Kontinenten. Es liegen ihnen, neben den unterschiedlichen Populationen, verschiedene Kartierungstechniken zugrunde. In deutschen Popula-

tionen wurden Fruchtbarkeits- und Kalbemerkmale beispielsweise von KÜHN et al. (2003), SEIDENSPINNER et al. (2009) und BRAND et al. (2010) kartiert. Mit den nordischen (Dänemark, Norwegen, Schweden) Teilen der Holstein Population arbeiteten HÖGLUND et al. (2009b), HÖGLUND et al. (2009a), SAHANA et al. (2010), SAHANA et al. (2011), HÖGLUND et al. (2012) und HÖGLUND et al. (2014). Ebenfalls in Europa kartierten Fruchtbarkeits- und Kalbemerkmale z. B. MINOZZI et al. (2013) in der italienischen Population sowie PURFIELD et al. (2014) und PURFIELD et al. (2015) in der irischen Population. Auch in den amerikanischen Populationen wurden zahlreiche Studien durchgeführt. Besonders hervorzuheben sind hier die Arbeiten der Gruppe um COLE et al. (2009), COLE et al. (2011) und COLE et al. (2014b), denn deren Untersuchungen haben einen ähnlichen Forschungs- und Ergebnisschwerpunkt wie die vorgelegte Studie.

In den deutschen Populationen wurden auf BTA18 übereinstimmend jeweils QTL für Kalbeverlauf und Totgeburt in der Region 50 bis 60 Mbp gefunden, ebenso in der amerikanischen Population. Auch in den nordischen Populationen wurden im gleichen Bereich QTL gefunden und ebenso in der Population Irlands. In der irischen- und amerikanischen Population wird derzeit intensiv an der zugrundeliegenden Ursache geforscht. Um die kausale(n) Variante(n) zu lokalisieren und zu identifizieren wurden bereits Sequenzanalysen der Daten vorgenommen. Jedoch konnte die kausale Variante in der amerikanischen Population bisher nicht ausgemacht werden (COLE et al., 2014a, COLE et al., 2014b). Jüngst erschien eine Arbeit, der die irische Population zugrunde liegt: PURFIELD et al. (2015) schlägt vier sinnverändernde Varianten im Bereich um den genomweit signifikantesten SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* (*rs109478645*) vor. Zwei dieser Mutationen liegen im Bereich von Sialic Acid Binding Ig-Like Lectin 12 (Siglec12), *rs461033009* bei 57.591.440 bp sowie *rs379481803* bei 57.591.394 bp und jeweils eine in Cytosolic Thiouridylase Subunit 1 (CTU1), *rs483267294* bei 57.521.276 bp und in Zinkfingerprotein 615 (ZNF615), *rs207571341* bei 58.108.985 bp (PURFIELD, persönliche Mitteilung 2015).

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, eine anhaltend gute Fruchtbarkeit der wichtigsten und verbreitetsten Milchviehrasse der Welt, anhand der deutschen Population, wieder verbessern zu können, indem die Ursache(n) für das Absinken der Fruchtbarkeit innerhalb der Population möglichst genau gefunden und beschrieben werden.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Material

Das Material für die vorliegende Arbeit stammt aus vorangegangenen Projekten. Insgesamt wurde ein Datensatz von 2527 HF Bullen verwendet. 2300 Bullen dieses Datensatzes stammen von Prof. Dr. Georg Thaller, vom Institut für Tierzucht und Tierhaltung der Fakultät für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Christian-Albrecht Universität zu Kiel. Sie wurden bereits zuvor im „GENOTRACK“-Projekt (gefördert durch das BMBF, Nr. 0315134A) verwendet (z. B. HABIER et al., 2010). Die restlichen Tiere entstammen Lager- und Datenbeständen des Lehrstuhls für Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre der LMU und wurden zuvor in andern Projekten verwendet (MEDUGORAC et al., 2012, ZELLER-ADAM, 2013).

1.1. Genotypisierung mit 50K-Chip und Qualitätskontrolle

Die Datensätze (siehe oben) beruhen auf Proben die bereits mit dem 50K-Chip (BOVINESNP50 BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA) genotypisiert wurden (MATUKUMALLI et al., 2009). Dieser SNP-Chip enthält als Version 1 54.001 SNP und als Version 2 54.609 SNP.

Für die QTL-Kartierung wurde die *Bos taurus* UMD 3.1 Karte genutzt und die SNP-Marker auf die dort angegebenen Positionen bezogen. Der Filterprozess für die Marker beinhaltete den Ausschluss der Marker nach folgenden Kriterien:

1. Marker, die in < 95 % aller Tiere erfolgreich genotypisiert wurden
2. Marker, die häufig zwischen Vater und Nachkommen Konflikte verursachten
3. Marker, deren Positionen in der Karte UMD 3.1 nicht aufgeführt sind
4. Marker mit einer ‚minor allele frequency‘ (MAF) < 2,5 %
5. Alle Marker, die auf den X oder Y-Chromosomen liegen, da sich die Analyse ausschließlich auf Autosome bezieht

Durch Anwendung dieser Ausschlusskriterien verbleiben 42.215 Marker. Um die Haplotypenanalyse zu verbessern, wurden 15 wichtig erscheinende Stammväter (Ahnen) im Nachhinein noch genotypisiert, insofern Proben oder Daten zugänglich waren. Ihre DNA wurde aus noch vorhandenen Spermaproben des ADR I-Verbundprojektes ([http://www.fbf-forschung.de/adr i und ii 1.html](http://www.fbf-forschung.de/adr_i_und_ii_1.html)) extrahiert,

welche auch schon in diversen anderen Projekten Verwendung fanden (z. B.: REINSCH et al., 1999, THOMSEN et al., 2000, KÜHN et al., 2003). Anschließend wurden auch diese mit dem 50K-Chip (BOVINESNP50 BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA), Version 2 typisiert.

1.2. Verwendete Merkmale, Zuchtwerte und Pedigree

Zehn Kalbe- und Fruchtbarkeitsmerkmale wurden zur QTL-Kartierung genutzt: Verzögerungszeit, Tage zwischen erster und erfolgreicher Besamung für Rinder (**VZR**) und Kühe (**VZK**); der Anteil der nicht erneut brünstigen Tiere 56 Tage nach letzter Besamung bei Rindern (**NR56R**) und Kühen (**NR56K**); Rastzeit, Tage zwischen Kalbung und erster Besamung (**RZ**); Güstzeit, Tage zwischen Kalbung und Konzeption (**DO**); paternaler (direkter) Kalbeverlauf (**pKV**) für Rinder und maternaler (indirekter) Kalbeverlauf (**mKV**) für Rinder beschreiben den Verlauf des Kalbevorganges, der in den vier Stufen (1) leicht, (2) normal, (3) schwer sowie (4) tierärztliche Hilfe und Operation beschrieben wird; paternale Totgeburt (**pTG**) für Rinder und maternale Totgeburt (**mTG**) für Rinder beschreiben die schon tot geborenen oder innerhalb von 48 Stunden verendeten Kälber. Die paternalen Merkmale werden dem Vater des Kalbs zugerechnet, dabei sind Form und Größe des Kalbs bezüglich des Kalbeverlaufes berücksichtigt (VIT, 2014). Die maternalen Merkmale werden dem Muttervater zugerechnet und bezeichnen dabei auch den Einfluss von Größe und Form des Beckens der Kuh (VIT, 2014).

Die verwendeten Zuchtwerte entstammen der offiziellen Zuchtwertschätzung des VIT (Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung, Heideweg 1, 27283 Verden, Germany) und wurden im Juni 2013 übermittelt. Die genutzten Bullen repräsentieren einen komplexen Pedigree mit 239 Halbgeschwisterfamilien mit einer Spannweite von 2 bis 95 Söhnen je Bulle und durchschnittlich 5,6 Söhnen. Drei Familien umfassen mehr als 50 Söhne, 9 Familien haben 49 bis 30 Söhne, 68 Familien haben 29 bis 10 Söhne und 159 Familien haben 9 bis 2 Söhne, die in diese Studie mit SNP-Genotypen sowie Zuchtwerten vertreten sind.

1.3. Zusätzliche Genotypisierung mittels HD-Chip

86 Tiere, die nach einer Vorauswahl bezüglich Haplotyp, Pedigree und Zahl der Nachkommen besonders interessant erschienen, wurden nach deren Vätern (Anzahl der Nachkommen), Diplotypeffekt (Höhe und somit Status Q1/Q1, Q1/q1, q1/q1, siehe Kapitel 2.6.3) und Muttervätern (Anzahl der Nachkommen) ausge-

wählt. Diese Tiere wurden mittels einem HD-Chip (BovineHD BEADCHIP, Illumina, San Diego, CA) typisiert, der 777.962 Marker enthält (MATUKUMALLI et al., 2011). Die Typisierung wurde von der GeneControl GmbH (Grub, Deutschland) im Auftrag durchgeführt.

Die Marker-Positionierung entsprach auch hier der UMD 3.1-Karte des *Bos taurus* Genoms (ftp://ftp.cbcb.umd.edu/pub/data/assembly/Bos_taurus/).

1.4. Sequenzierung

Es wurde das Genom von 4 Bullen sequenziert. Die Auswahl erfolgte aufgrund des genauen Abbruchpunktes des Haplotyps Q1 und der unmittelbar folgenden Sequenz, um die Länge des Haplotyps Q1 einzugrenzen, und der Kombination mit dem zweiten Haplotypen. Dieser Auftrag wurde vom Labor für Funktionelle Genomanalyse (<http://www.genzentrum.lmu.de/lafuga/>) am Genzentrum der LMU durchgeführt. Die Sequenzierung erfolgte auf einem HiSeq 1500-System von Illumina. Die mittels Burrows-Wheeler Aligner Software (LI & DURBIN, 2009) auf UMD 3.1 gemappten Sequenzdaten wurden als „*.BAM-Files“ zur Verfügung gestellt.

2. Methoden

2.1. Haplotypenrekonstruktion

Haplotyp-Inferenz und Imputation wurden in einem versteckten Markov-Modell (Hidden Markov-Modell, HMM) mittels der Software *BEAGLE 3.0.4* (BROWNING & BROWNING, 2009) geschätzt. Mit steigender Stichprobe steigt auch die Genauigkeit der Haplotypisierung (BROWNING & BROWNING, 2009). Um die Haplotypenrekonstruktion zu verbessern, wurden alle verfügbaren Pedigreeinformationen und SNP-Genotypen von zur Verfügung stehenden Tieren der Art *Bos taurus* berücksichtigt. Entsprechend der *BEAGLE*-Anleitung wurden drei Kohorten der genotypisierten Tiere gebildet: Trios, Paare und nicht verwandte Tiere.

2.2. Unified additive relationship und Hauptkomponentenanalyse

Um die Populationsschichtung und die familiären Verwandtschaftsbeziehungen im gemischten linearen Modell zu berücksichtigen, wurden unified additive relationships (UAR, vereinheitlichte additive Verwandtschaftsbeziehungen) für alle Tiere geschätzt (POWELL et al., 2010). Anschließend wurden Hauptkomponen-

ten (PCs, principal components) der UAR-Matrizen in *R* (R CORE TEAM, 2013) geschätzt. Hierfür wurde das *R*-Paket *PARAN* (DINNO, 2007), eine Implementierung von Horns Technik zur numerischen und grafischen Evaluierung der Komponenten einer Hauptkomponentenanalyse (PCA, principal component analysis), verwendet. Die Matrix konnte somit effektiv von 2527 x 2527 auf 2527 x 110 verkleinert werden ohne signifikanten Informationsverlust. Die 110 PCs spiegeln integriert im gemischten linearen Modell (siehe Kapitel 2.4) mehr als 90 % der genetischen Varianz wieder.

2.3. Locus IBD (LocIBD) und Diplotyp-Verwandtschaftsbeziehung

Die Prozedur nach MEUWISSEN und GODDARD (2001) zur Vorhersage der *identity by descent* (IBD)-Wahrscheinlichkeiten von Marker-Haplotypen wurde dazu genutzt, die IBD zwischen Chromosomenpaaren an beliebiger Position zu schätzen. Die Methode wurde entsprechend angepasst, um die lokale IBD (LocIBD) an der mittleren Position eines 40-SNP Fensters (zwischen Marker 20 und 21), welches entlang des Genoms gleitet, abzuschätzen. Entsprechend LEE und VAN DER WERF (2006) bezüglich additiv genetischer Verwandtschaftsmatrizen (\mathbf{G}_{RM}), wurden die LocIBD-Matrizen in Diplotyp Verwandtschaftsmatrizen (\mathbf{D}_{RM}) konvertiert. Der Diplotyp bezeichnet das Haplotypenpaar des Individuums. Die LocIBD-Matrizen beinhalten jeweils vier IBD-Wahrscheinlichkeiten. Die Umrechnung in die \mathbf{D}_{RM} erfolgt durch aufsummieren und halbieren der vier IBD-Wahrscheinlichkeiten der Haplotypen aus den jeweiligen Diplotypenpaaren, entsprechend der \mathbf{G}_{RM} (LEE & VAN DER WERF, 2006).

2.4. Kombinierte Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse

Die Berechnungen der genomweiten kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse (*cLDLA*) erfolgen äquivalent zur Methodik von MEUWISSEN et al. (2002). Die Kopplungsinformationen wurden während der Haplotypenrekonstruktion berücksichtigt. Diese wurde basierend auf Verwandtschaftsbeziehungen genotypisierter Tiere durchgeführt. Das Kopplungsungleichgewicht wurde während der LocIBD Schätzung berücksichtigt. Das gemischte lineare Modell, welches für die QTL-Kartierung verwendet wurde, berücksichtigte zufällige QTL-Effekte, die auf Diplotypeffekten basierten und deren Verwandtschaft durch eine \mathbf{D}_{RM} Matrize beschrieben wurde, die 110 PCs (als fixe Kovariablen), welche die Populationsschichtung und familiären Verwandtschaften be-

rücksichtigten:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{q} + \mathbf{e}$$

wobei

\mathbf{y} = Vektor des Phänotyps des untersuchten Merkmals

$\boldsymbol{\beta}$ = Vektor der fixen Effekte (einschließlich des Gesamtmittelwertes μ und der 110 Hauptkomponenten)

\mathbf{q} = Vektor der zufällig-additiv-genetischen Effekte bezüglich QTL mit $\mathbf{q} \sim N(0, \mathbf{D}_{\mathbf{RMp}} \sigma_q^2)$, wobei $\mathbf{D}_{\mathbf{RMp}}$ die Diplotyp Verwandtschaftsmatrix der Position p des vermeintlichen QTL darstellt

\mathbf{e} = Vektor der zufälligen Resteffekte mit $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I} \sigma_e^2)$, wobei \mathbf{I} eine Identitätsmatrix darstellt

Hierbei wurden die Zufallsvektoren \mathbf{q} und \mathbf{e} als nicht korreliert und normalverteilt angenommen.

Eine Varianzkomponentenanalyse wurde in *ASREML* (GILMOUR et al., 2009) für jedes der 40-SNP großen Gleitfenster und der zehn Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmale durchgeführt. Der gleiche *ASREML*-Lauf führte eine synchrone Schätzung der Varianzen σ_q^2 und σ_e^2 , der Zufallsvektoren \mathbf{q} und \mathbf{e} sowie der maximalen Likelihood des Models aus.

Die Likelihood Ratio Test-Statistik ($LRT = -2 (\log L_0 - \log L_p)$) wurde berechnet mit dem zuvor in *ASREML* kalkulierten Logarithmus der Wahrscheinlichkeit (Likelihood), sowohl für das Modell ($\log L_p$) mit, als auch das Modell ohne zufällige QTL-Effekte ($\log L_0$; korrespondierend zur Nullhypothese). Diese Test-Statistik folgt einer χ^2 -Verteilung mit einem Freiheitsgrad (OLSEN et al., 2004). Um die Rate falsch positiver Ergebnisse möglichst gering zu halten wurde ein signifikanter *LRT*-Schwellenwert von 19,511 gewählt, der einen *P*-Wert von 1×10^{-5} repräsentiert. Somit wurden alle maximalen *LRT*-Werte $\geq 19,511$ ($P < 10^{-5}$) als signifikant gewertet. Der maximale Wert innerhalb einer solchen signifikanten Region wurde als LRT_{max} bezeichnet. Als Konfidenzintervall für die QTL-Position wurde ein 2-LOD (logarithm of odds)-Intervall angenommen (VANOIJEN, 1992, VISSCHER & GODDARD, 2004, KIM et al., 2009). Ein 2-LOD-Intervall weist eine Sicherheit von 99 % auf (BERGER et al., 2014), dass die kausale Variante in

diesem Bereich liegt. Die Serie von Abbildung 2 bis Abbildung 6 soll die beschriebene Vorgangsweise, zur Bestimmung der QTL veranschaulichen. Das 2-LOD-Intervall, ein Konfidenzintervall (CI), wurde als Intervall in beide Richtungen um den LRT_{max} konstruiert (veranschaulicht durch die violette Klammer). Ein individueller LRT -basierter Grenzwert (LRT_{CI}) wurde für jeden LRT_{max} berechnet, der LRT_{CI} folgendem entspricht:

$LRT_{max} - 4 \times \ln(10)$, wobei dies $LRT_{max} - 2 \text{ LOD}$, mit $1 \text{ LOD} = 4,605$, gleichkommt; LRT_{max} ist der maximale LRT -Wert der Kurve. Der orange-gestrichelte Pfeil (jeweils in Abbildung 2 bis Abbildung 6) symbolisiert das 2-LOD-Intervall. Die genaue Position des LRT_{CI} -Werts (veranschaulicht durch die horizontale, rot-gestrichelte Linie und dem Schnittpunkt mit blauer Linie) wurde für jeden LRT_{max} individuell aus den Daten abgelesen; die zugehörigen x-Koordinaten wurden in beide Richtungen notiert (nach links durch die rot-gestrichelte, nach rechts durch die grün-gestrichelte Linie veranschaulicht) und als Grenzen (violett) des QTL-Bereichs festgesetzt.

Für die Zuteilung der LRT_{max} zu QTL wurden folgende Kriterien angewandt:

1. Nur LRT_{max} mit $LRT \geq 19,511$ ($P < 1 \times 10^{-5}$) wurden berücksichtigt. Siehe Abbildung 2 und Abbildung 3.
2. LRT_{max} des gleichen Merkmals, deren 2-LOD-Intervalle sich überschneiden, wurden als ein QTL gezählt (VANOIJEN, 1992, VISSCHER & GODDARD, 2004, KIM et al., 2009). Siehe Abbildung 4.
3. Zwischen LRT_{max} des gleichen Merkmals musste mindestens eine Fensterbreite (40 SNP) Abstand sein, andernfalls wurden auch diese zu einem QTL zusammengefasst. Siehe Abbildung 5.
4. Alle LRT_{max} , deren Spearman-Korrelation eine starke Korrelation $\geq 0,7$ aufwiesen, wurden zu einem QTL zusammengefasst. Siehe Abbildung 6.

Durch Anwendung der Kriterien 2 bis 4 steigt die Sicherheit des resultierenden CI.

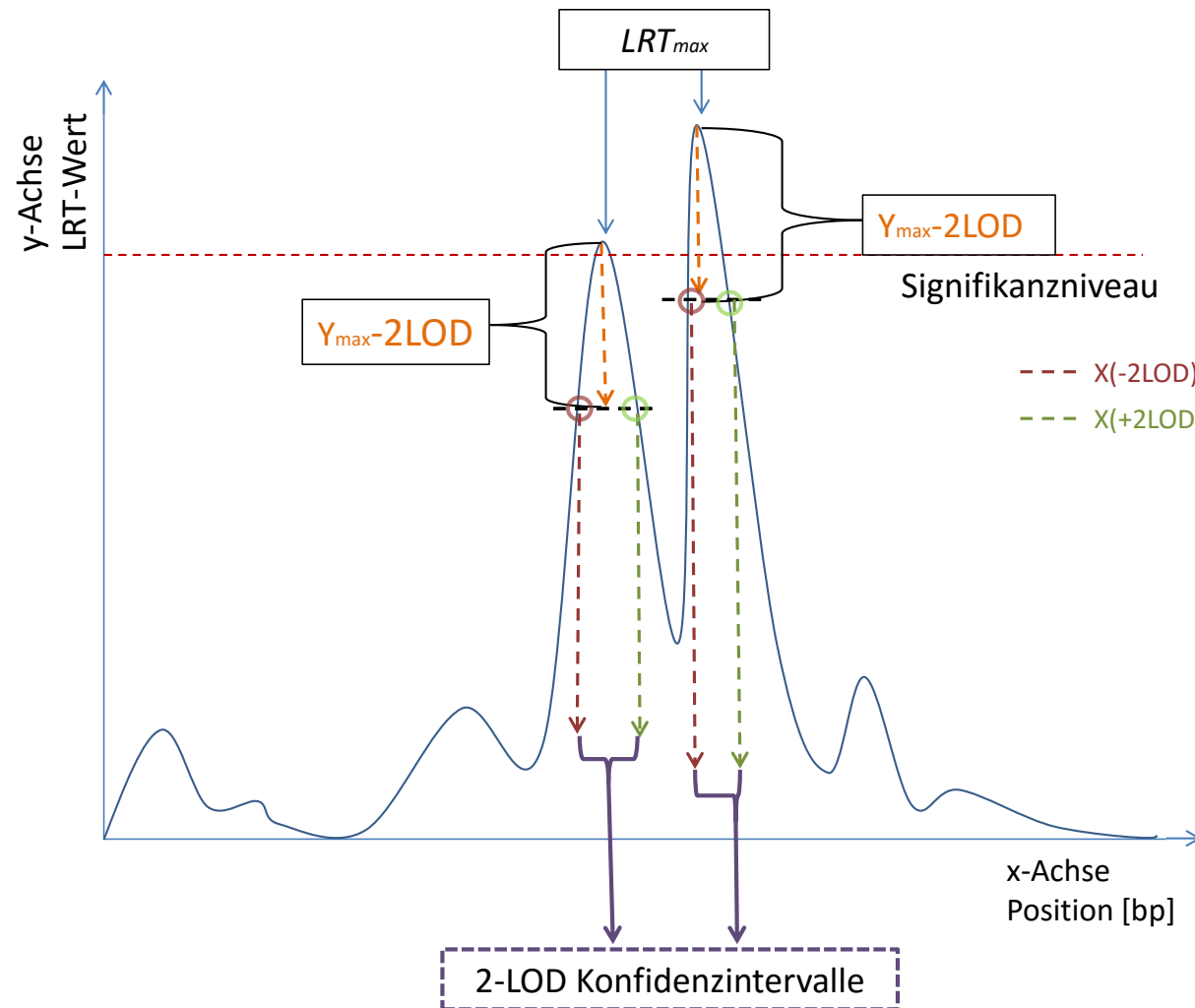


Abbildung 2: Kriterium 1 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.

Gezeigt wird ein Merkmal (blaue LRT -Kurve). Die rot-gestrichelte Linie zeigt die Schwelle des Signifikanzniveaus. Die orange-gestrichelte Linie symbolisiert, wie das Maximum LRT_{max} um 2-LOD bis zur schwarz-gestrichelten Linie auf die neue Grenze abgesenkt wird. Für beide LRT Maxima wird jeweils ein 2-LOD Konfidenzintervall gebildet.

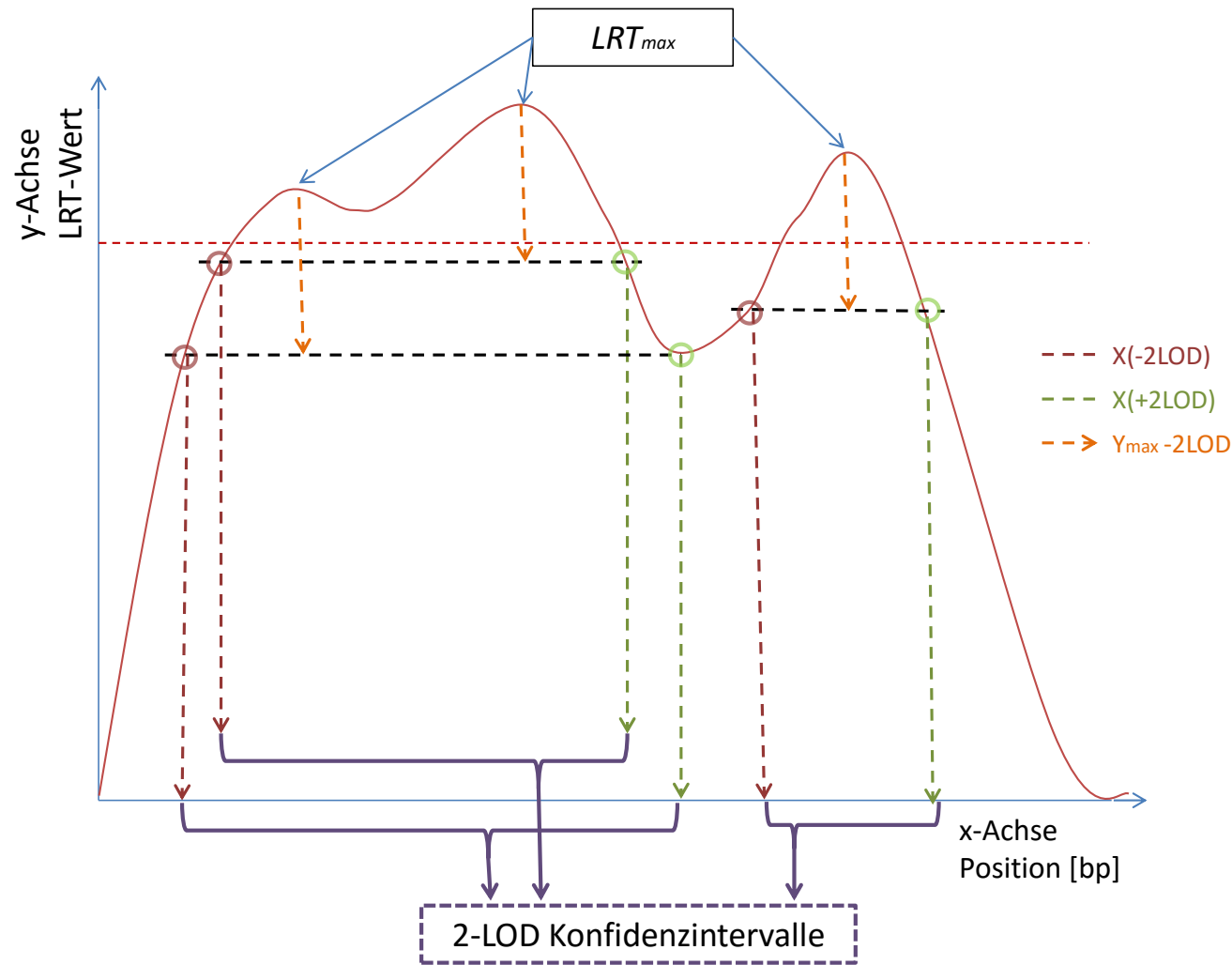


Abbildung 3: Kriterium 1 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL, wie auch in Abbildung 2 gezeigt.

Es zweites Merkmal (rote Kurve) kommt hinzu. Die Koordinaten des Schnittpunkts der schwarzgestrichelten Linie mit der Kurve (dunkelroter und grüner Kreis) sind nun die Grenzen des Intervalls. Die dunkelrot sowie die grün gestrichelten Linien zeigen jeweils wie die Grenzen des 2-LOD-Intervalls sich auf der x-Achse abbilden.

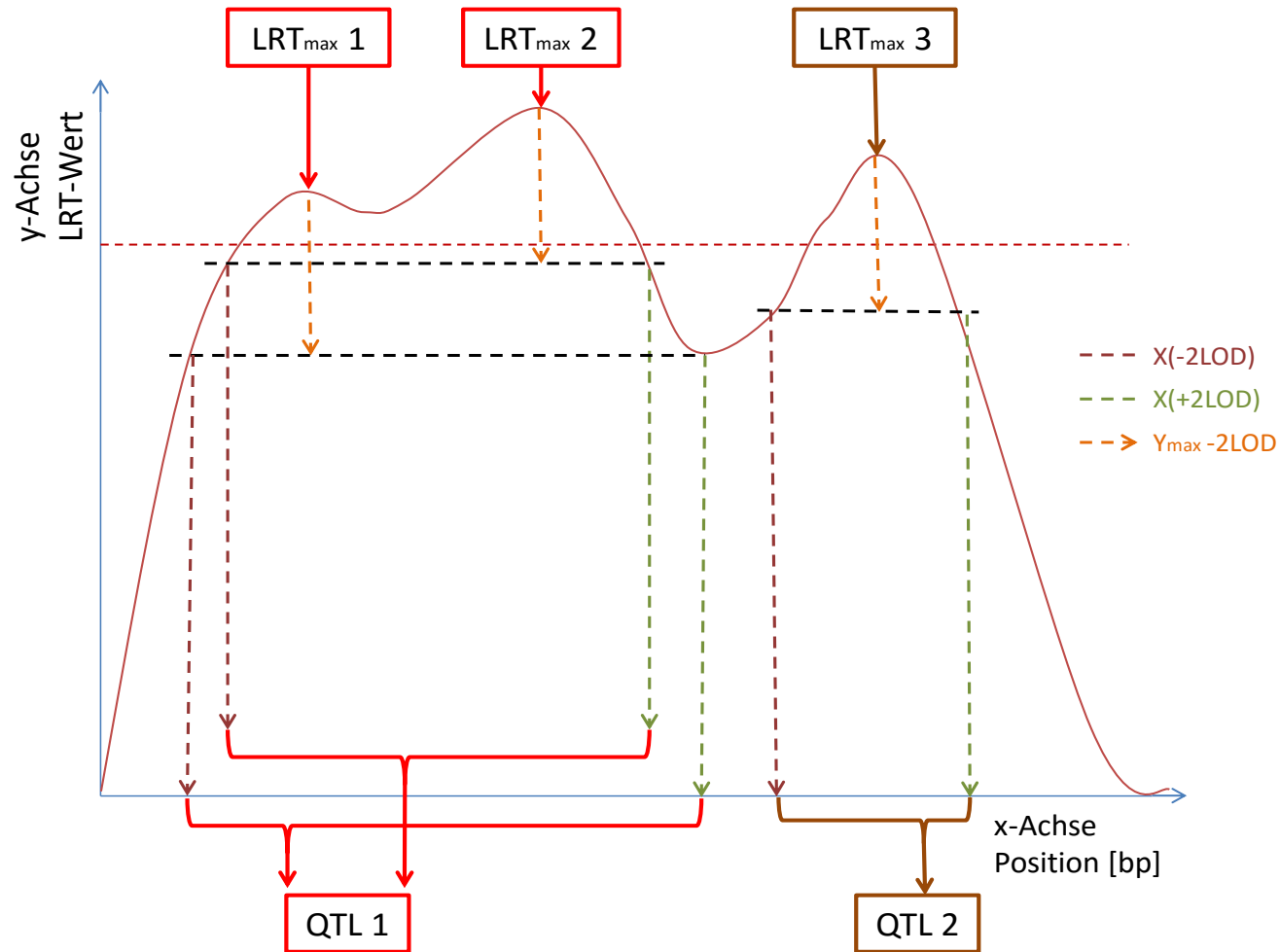


Abbildung 4: Kriterium 2 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.

In dieser Abbildung wird veranschaulicht, wie das $LRT_{max} 1$ der roten Kurve und das $LRT_{max} 2$ der roten Kurve mit dem 2-LOD-Intervall überlagert und somit zu QTL 1 wird. Das $LRT_{max} 3$ bildet ein eigenes QTL.

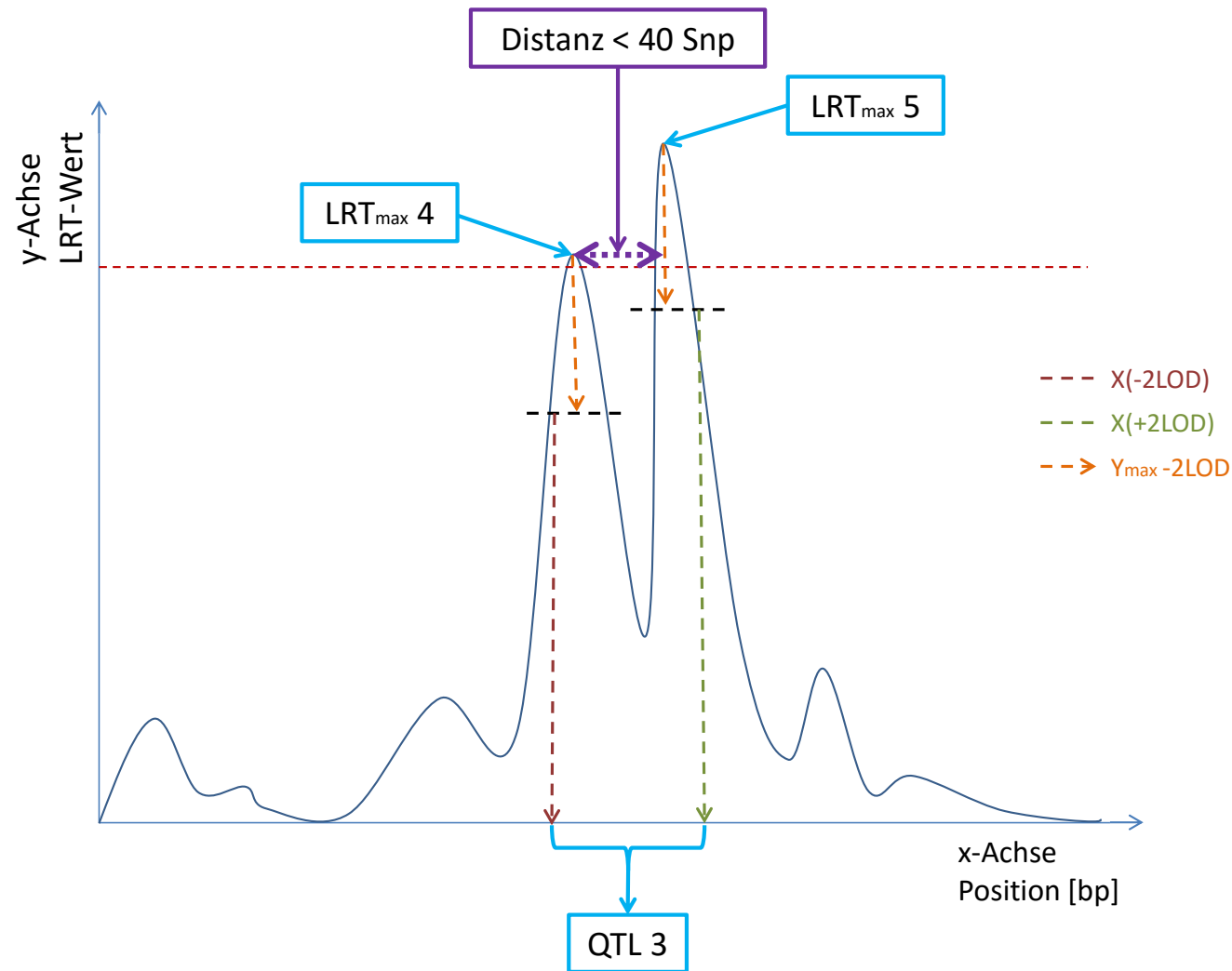


Abbildung 5: Kriterium 3 des Schemas der Zuteilung der LRT_{\max} zu QTL.

Es wird veranschaulicht, wie die $LRT_{\max 4}$ und $LRT_{\max 5}$ aufgrund ihrer Nähe (< 40 SNP, veranschaulicht durch den violett gepunkteten Doppelpfeil) zusammengefasst werden. Der Bereich des Konfidenzintervalls wird nun von der roten Linie proximal und der grünen Linie distal begrenzt.

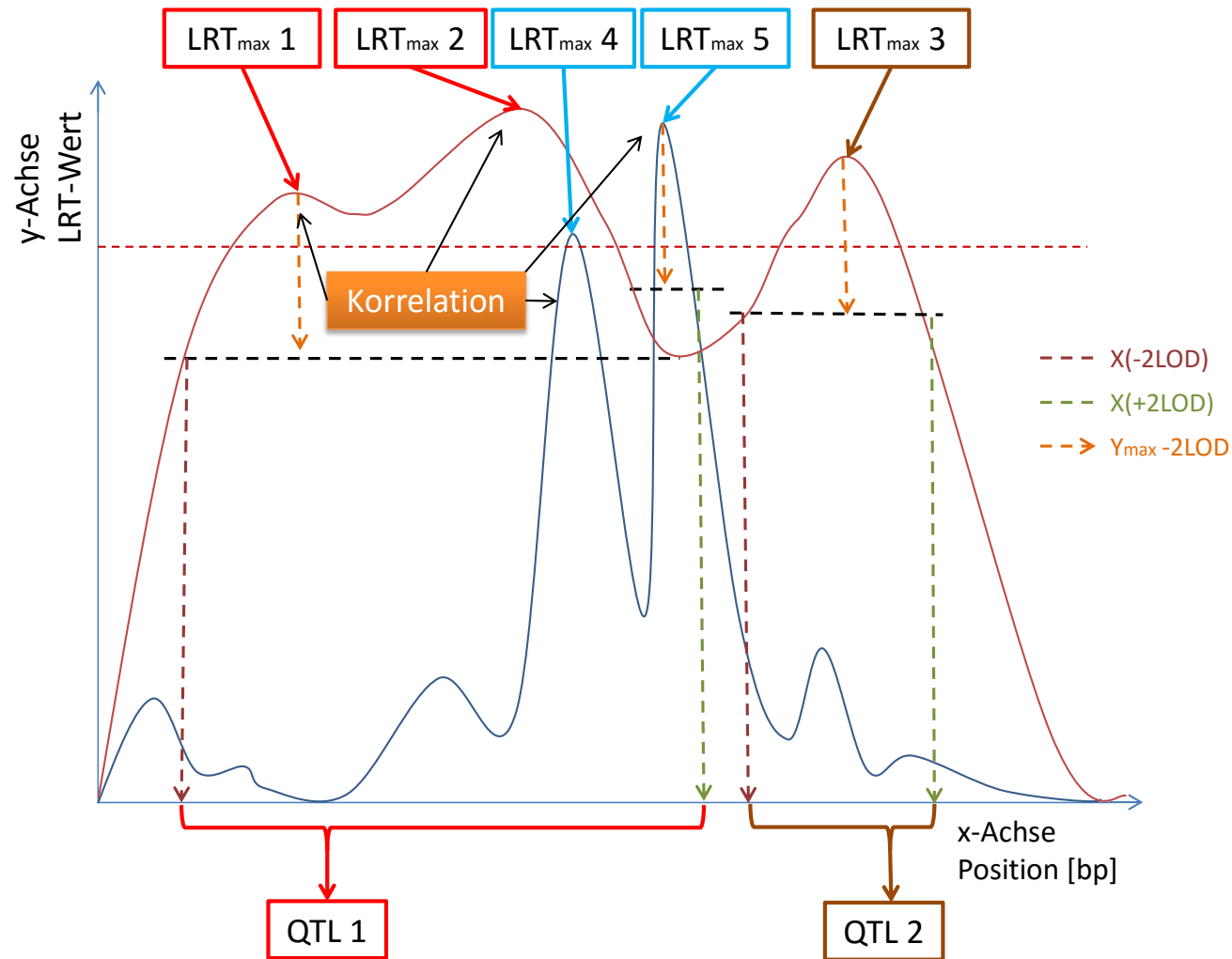


Abbildung 6: Kriterium 4 des Schemas der Zuteilung der LRT_{\max} zu QTL.

Es wird gezeigt, wie QTL 3 (hier $LRT_{\max} 4$ und 5, hellblau) aus Abbildung 5 mit QTL 1 (hier $LRT_{\max} 1$ und 2, rot) aus Abbildung 4 zu einem neuen QTL 1 integriert werden, da die berechnete Korrelation miteinander größer 0,7 ist.

2.5. Mixed linear model association (MLMA)-Analyse

Um die Haplotyp-basierten *cLDLA* Ergebnisse mit SNP-basierten GWAS-Ergebnissen vergleichen zu können, berechnete das Programm GCTA eine genomweite Assoziationsstudie mit der integrierten LOCO (leave one chromosome out)-Option (YANG et al., 2014). Wie YANG et al. (2014) für ihre *MLMA*-Analyse zeigen konnten, führt der *MLM_e*-Ansatz (*e* = excluded: Die Marker des berechneten Chromosoms werden jeweils aus der **G_{RM}** ausgeschlossen) zu einer erhöhten ‚Power‘ im Verhältnis zur einfachen linearen Regression. Zur Erstellung der Eingabedateien wurde PLINK verwendet (PURCELL et al., 2007). Die *MLMA*, bezeichnet als *MLMA#1*, wurde mit einem Markersatz von 41.787 SNP durchgeführt, die eine MAF > 2,5 % aufwiesen. Für jeden SNP schätzte das Programm einen *P*-Wert. Für einen einfachen visuellen Vergleich der GWAS-Ergebnisse mit den *cLDLA*-Ergebnissen wurden die negativen Logarithmen der *P*-Werte und der *LRT*-Werte im gemeinsamen Diagramm für jedes Chromosom dargestellt.

Um die durchgeführte *MLMA#1* genomweit mit der *cLDLA* vergleichen zu können, wurden die signifikanten ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP mit den 2-LOD-Intervallen der in der *cLDLA* detektierten QTL verglichen.

2.6. Literaturrecherche und weiterführende *cLDLA* und *MLMA* auf BTA18 zur Absicherung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Analysen wurden mit den bereits in der Literatur publizierten QTL für Fruchtbarkeits- und Kalbprobleme von Milchviehrassen verglichen. Um die Ergebnisse der Analysen weitergehend abzusichern, wurden vier weitere Analysen durchgeführt: *MODELL#2*, *-#3*, *-#4* und *-#5* sowie eine weitere *MLMA*, *MLMA#2*. Weiterhin wurden die Zuchtwerte nach GARRICK et al. (2009) deregressiert. Für BTA18 wurde eine weitere *cLDLA* und *MLMA* mit den deregressierten Zuchtwerten zum Vergleich vorgenommen.

2.6.1. Literaturrecherche

Eine Literaturrecherche wurde durchgeführt, um bereits bekannte QTL für gleiche Merkmale und Intervalle beim HF zu identifizieren.

Für jeden QTL wurde das 2-LOD-Intervall mit den bereits bekannten QTL der Datenbanken *The Bovine Genome Database* (REESE et al., 2010, CHILDERS et al., 2011, BOVINE GENOME DATABASE CONSORTIUM, 2014) und *Catt-*

leQTLdb (HU et al., 2013) verglichen. Da sich im Verlauf der Recherche ergab, dass die angegebenen Positionen der Datenbanken nicht grundsätzlich übereinstimmend sind mit den tatsächlichen Positionen auf UMD 3.1, wurden die in den entsprechenden Studien angegebenen Marker mit Ensembl (cow release 77, Oktober 2014, benutzt: 17. & 18. November 2014) bezüglich ihrer derzeitigen Position auf UMD 3.1 abgeglichen. Falls eine Markerposition nicht auf UMD 3.1 bekannt war, wurde deren Sequenz durch Ensembl geblastet und diese verwendet, insofern der Marker nicht in der ARK Datenbank (<http://www.thearkdb.org/arkdb/>) eingetragen war. Beim so genannten Blasten wird die bekannte Sequenz um den Marker mit der Referenzsequenz abgeglichen. Dabei wird abgefragt, an welchen Stellen (Chromosom und Position) die eingegebene Basenreihenfolge vorkommt.

Im Mai 2015 stellte sich heraus, dass die *CattleQTLdb* die QTL inzwischen wieder korrekt anzeigt. Zu diesem Zeitpunkt waren jedoch schon alle Intervalle manuell mit Hilfe von Ensembl rausgesucht und verglichen worden. Der Betreiber der Datenbank wurde zuvor auf die inkorrekten Intervalle der QTL hingewiesen.

2.6.2. *MODELL#2: Ausschluss des SNP ARS-BFGL-NGS-109285*

Es wurde eine weitere *cLDLA* mit identischer Methode wie zuvor (*MODELL#1*, beschrieben in Kapitel 2.4.) durchgeführt. Der Unterschied bestand im Ausschluss des SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* vom Datensatz der Marker. Der ausgeschlossene SNP stellte den genomweit signifikantesten SNP der *MLMA* dar. Ebenso fand COLE et al. (2009) diesen SNP als genomweit signifikantesten SNP. Dies sollte formell ausschließen, dass der Effekt des SNP alleine den signifikantesten QTL-Effekt auf Chromosom 18 hervorruft, da dieser auch Bestandteil des 40-SNP Gleitfensters an der Maximalposition der *cLDLA* war.

2.6.3. *MODELL#3: Absicherung des Haplotyps Q1, der ideal mit einem QTL assoziiert ist, und mögliche carry-over Effekte*

Um den Haplotyp zu erkennen, der am signifikantesten mit dem QTL auf BTA18 (59.179.424 bp) assoziiert war, wurden die dazugehörigen *ASREML*-Analyseergebnisse von *MODELL#1* ausgewertet. Hierfür wurden die Ergebnisse nach Höhe des Diplotypeffektes für entsprechendes Merkmal sortiert.

Basierend auf der Verteilung der nach Diplotypeffekt sortierten Haplotypen und der Gemeinsamkeiten derer, die die negativsten Diplotypeffekte aufwiesen, wurde der vermutete kausale Haplotyp (im Folgenden Q1) abgeleitet. Die Tiere wurden,

auf Grundlage der Diplotypen, unterteilt in eine homozygote Gruppe Q1/Q1, eine heterozygote Gruppe Q1/q1 sowie eine heterogene Gruppe q1/q1. Q1 repräsentierte hierbei den vermuteten kausalen Haplotypen und q1 fasst alle übrigen Haplotypen zusammen. Die Gruppenzugehörigkeit eines jeden Tieres wurde dann als fixer Effekt in das lineare Modell aufgenommen und in eine erneute Varianzkomponentenanalyse miteinbezogen. Dieses Modell (*MODELL#3*) wurde durchgeführt, um einerseits den Effekt des Haplotyps zu validieren und andererseits, um mögliche carry-over Effekte des Haplotypen auf nahe Regionen zu überprüfen, die dann als fälschliche QTL registriert werden.

2.6.4. *MODELL#4: SNP ARS-BFGL-NGS-109285 als fixer Effekt modelliert*

Analog zu *MODELL#3* wurde eine weitere, vertiefende *cLDLA* (*MODELL#4*) durchgeführt. Der Genotyp-Status für den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* wurde gleichfalls, analog wie in *MODELL#3*, als fixer Effekt in das gemischte lineare Modell miteinbezogen. Die Berechnung von *MODELL#4* korrigierte so für den in der *MLMA* signifikantesten SNP *ARS-BFGL-NGS-109285*.

2.6.5. *MODELL#5: Ausschluss des SNP BTA-29287-no-rs*

Analog zu *MODELL#2* wurde nun der SNP *BTA29287-no-rs* ausgeschlossen, dessen Position sich direkt proximal neben der Position des *LRT_{max}* aus *MODELL#1* befindet und bei COLE et al. (2011) ebenso als signifikantester SNP für pTG, zweit-signifikanter SNP für mKV und viert-signifikanter für pKV gefunden wurde. Ähnlich *MODELL#2* sollte diese Analyse formell zeigen, inwieweit dieser SNP für den Effekt des Haplotyps von Bedeutung ist.

2.6.6. *MLMA#2: virtueller SNP der auf dem Haplotyp basiert*

Eine weitere *MLMA*, *MLMA#2*, wurde berechnet, um die Aussagekraft des identifizierten Haplotyps Q1 mit dem signifikantesten SNP (*ARS-BFGL-NGS-109285*) der *MLMA* zu vergleichen. Der einzige Unterschied zur ersten *MLMA* war ein zusätzlich erstellter, fiktiver SNP, der anhand der Haplotypen analog zu *MODELL#3* erstellt wurde. Dieser beruhte auf den vermutlichen QTL-Genotypen Q1/Q1, Q1/q1 und q1/q1 (siehe Kapitel 2.6.3, *MODELL#3*). Die *MLMA#2* stellte also eine Überprüfung der *cLDLA* Ergebnisse mit *MLMA*-Methodik dar und ergänzt sich deshalb mit *MODELL#4*, das der Überprüfung der *MLMA*-Ergebnisse mit *cLDLA*-Methodik dient. Diese wechselseitige Validierung gewährleistete, dass Schlussfolgerungen zur Präzision der Ergebnisse und zur Verlässlichkeit der

Methoden unabhängig gezogen werden konnten.

2.7. Deregression der Zuchtwerte

Einige Studien führten ihre Berechnungen auf Grund von regressierten Zuchtwerten durch (z. B. HÖGLUND et al., 2012, HÖGLUND et al., 2014), andere berechneten zunehmend auf Grundlage deregressierter Zuchtwerte (COLE et al., 2009, SEIDENSPINNER, 2009, COLE et al., 2014b, PURFIELD et al., 2014, PURFIELD et al., 2015). Um einen Vergleich ziehen zu können, ob eine Deregression auf die *cLDLA* einen Einfluss hat, der den Aufwand der Deregression rechtfertigt, wurde dieser Vergleich zwischen den eingangs verwendeten regressierten und jetzt deregressierten Zuchtwerten vorgenommen. Da die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte *cLDLA* Methode erstmals in ROTHAMMER et al. (2014) beschrieben wurde, liegen hierzu bisher keine Erfahrungswerte vor, da ROTHAMMER et al. (2014) keine Zuchtwerte, sondern mittels Dual-Röntgen-Absorptiometrie erstellte Phänotypen verwendeten.

Die Zuchtwerte wurden nach GARRICK et al. (2009) deregressiert und im Anschluss einer Analyse auf Ausreißer unterzogen. Hierfür erfolgte eine Aufbereitung der deregressierten Zuchtwerte mit R 3.0.2, indem die Funktion `boxplot.status` (Daten, `coef=3,0`) angewandt wurde. Dadurch wurde für jedes Merkmal ein Box-Whisker-Plot der Zuchtwerte erstellt und die Ausreißer (Werte außerhalb des Konfidenzintervalls, `coef=3,0`) ausgeschlossen (siehe Abbildung 7). So detektierte Ausreißer wurden in der Varianzkomponentenanalyse nicht berücksichtigt. Diese Aufbereitung war notwendig, um vorkommende, extrem ausreißende, deregressierte Zuchtwerte, die aufgrund geringer Sicherheiten mancher Tiere methodenbedingt vorkommen, auszuschließen. Alle ausgeschlossenen Werte sind im Anhang in Tabelle 8 aufgelistet.

Im Anschluss wurde für BTA18 eine weitere *cLDLA* mit deregressierten, statt regressierten Zuchtwerten für alle zehn Phänotypen berechnet. Ebenso wurde für die Kalbmerkmale eine *MLMA* mit den deregressierten Zuchtwerten durchgeführt.

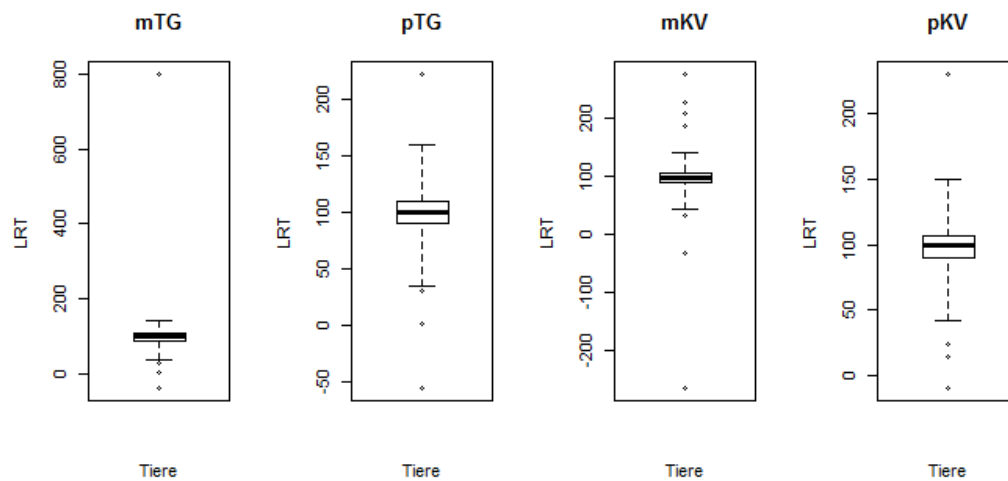


Abbildung 7: Box-Whisker-Plots zur Veranschaulichung der Ausreißer der deregressierten Zuchtwerte für maternale (mTG) und paternale Totgeburten (pTG) sowie maternale (mKV) und paternale Kalbeverläufe (pKV).

Dem Whisker Ansatz liegt eine Spannweite (range) von 3,0 zugrunde. Alle Werte außerhalb dieser Spannweite werden als Ausreißer definiert und ausgeschlossen.

2.8. Vergleich der Sequenzdaten

Die Sequenzdaten wurden im *Integrative Genomics Viewer* (IGV), Version 2.3 betrachtet (ROBINSON et al., 2011, THORVALDSDOTTIR et al., 2013) und so die vorhandenen Sequenzen von den 4 Tieren, welche den Haplotyp Q1 tragen, mit den von PURFIELD et al. (2015) publizierten Ergebnissen verglichen. Die angegebenen Variationen (PURFIELD, persönliche Mitteilung 2015) der SNP in Siglec12 (*rs461033009*: 57.591.440 bp & *rs379481803*: 57.591.394 bp), in CTU1 (*rs483267294* bei 57.521.276 bp) und in ZNF615 (*rs207571341*: 58.108.985 bp) wurden anhand der Sequenzdaten der vorliegenden Arbeit überprüft.

IV. ERGEBNISSE

1. Genomweite Ergebnisse

Zunächst werden alle genomweiten Ergebnisse dargestellt. Diese beziehen sich auf die *cLDLA*-Ergebnisse, *MODELL#1*, und die zum Vergleich angestellte *MLMA*, *MLMA#1*, welche am gleichen Datensatz durchgeführt wurde.

1.1. *cLDLA* Ergebnisse des gemischten linearen Modells, *MODELL#1*

Die Ergebnisse des gemischten linearen Modells sind in Abbildung 8 ersichtlich. Die rot gestrichelte Linie stellt die Signifikanzgrenze dar. Diese zeigt einen *LRT*-Wert von 19,511, was einem *P*-Wert $< 1 \times 10^{-5}$ entspricht. Wie ersichtlich, werden für jedes Merkmal signifikante *LRT*_{max} erreicht. Insgesamt konnten somit 90 signifikante *LRT*_{max} ermittelt werden.

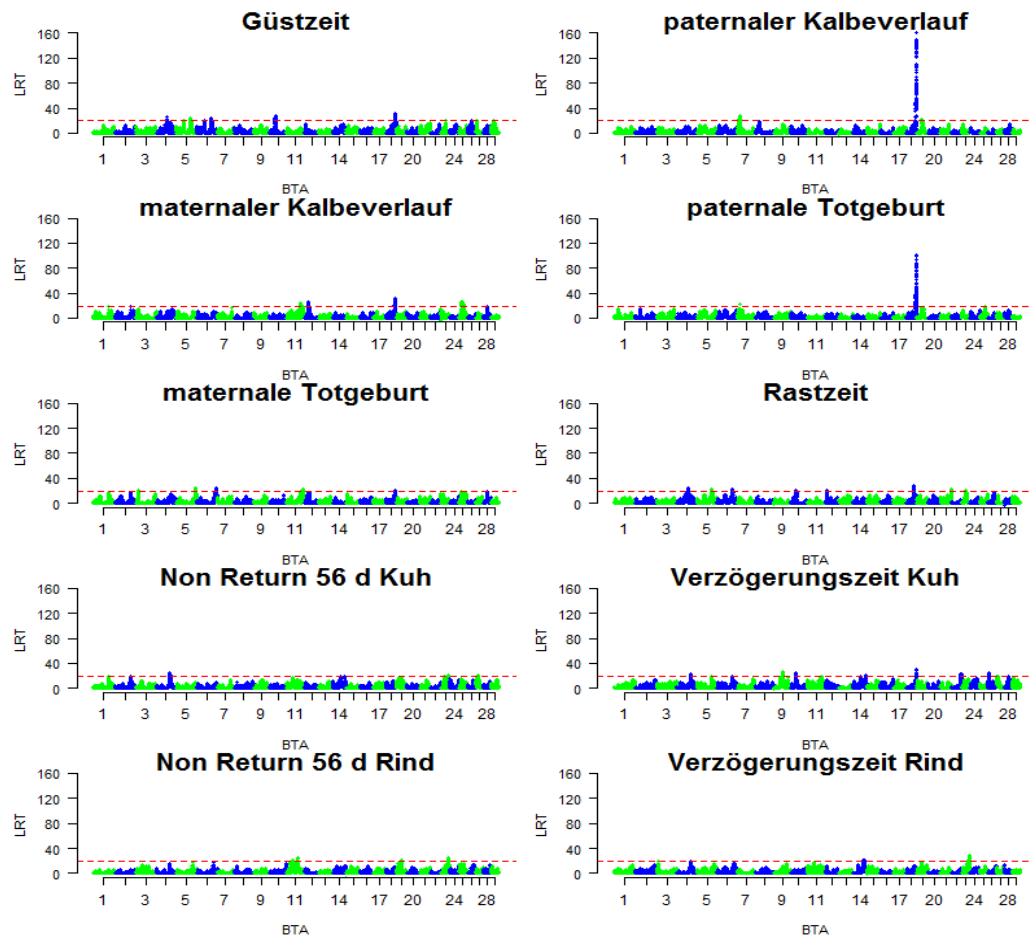


Abbildung 8: *LRT*-Werte der *cLDLA* (*MODELL#1*) für die 10 verwendeten Phänotypenmerkmale.

Auf der x-Achse findet sich das Chromosom und auf der y-Achse ist die Höhe der *LRT*-Werte ablesbar. Die rot-gestrichelte Linie entspricht der Signifikanzschwelle bei *LRT* = 19,511 ($P < 1 \times 10^{-5}$).

Die Zahl der signifikanten LRT_{max} der Phänotypen variierte zwischen vier für VZR und 14 für pKV. Keine signifikanten LRT_{max} , und somit auch keine QTL wurden für BTA1, -2, -8 -13, -15, -16, -17, -20, -21, -24 und -28 gefunden. Eine Übersicht ist der Tabelle 2 zu entnehmen.

Nachdem die in den Methoden beschriebenen Kriterien angewendet wurden, ergaben sich genomweit 50 QTL. Die LRT_{max} und daraus resultierende QTL sind im Anhang in Tabelle 9 gelistet. Dort sind die genomweiten Ergebnisse detailliert einzusehen, die genomweit signifikantesten Ergebnisse wurden für BTA18 registriert. Diese werden im folgenden Kapitel 2 eingehend dargestellt.

Die 50 QTL gliedern sich folgendermaßen auf: Ein signifikanter QTL konnte jeweils auf BTA3, 7, 9, 10, 21 und 29 gefunden werden. Zwei signifikante QTL fanden sich jeweils auf BTA12, 14, 19, 22, 26 und 27. BTA25 zeigte drei signifikante QTL. Vier signifikante QTL wurden auf BTA4, 5, 6 und 23 gefunden. Sechs QTL wurden auf BTA11 und 7 QTL auf BTA18 gefunden.

Tabelle 2: Übersicht über die Ergebnisse der *cLDLA*, MODELL#1.

Die Zahl der signifikanten Maxima der Kurven ($LRT > 19,511$) je Merkmal und Chromosom (Chr) sowie die Anzahl der signifikanten LRT Maxima der Kurven ($nLRT_{max}$) und der daraus bestimmten QTL ($nQTL$) werden dargestellt.

Chr	Merkmale										$nLRT_{max}$	nQTL
	RZ	DO	VZR	NR56R	VZK	NR56K	mKV	mTG	pKV	pTG		
3	-		-	-	-	-	-	1	-	-	1	1
4	2	1	-	-	2	4	-	-	-	-	9	4
5	2	1	-	-	-	-	-	-	3	3	9	4
6	1	3	-	-	-	-	-	3	-	-	7	4
7	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1	5	1
9	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2	1
10	2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	5	1
11	-	-	-	3	1	-	1	2	-	-	7	6
12	1	-	-	-	-	-	1		-	-	2	2
14	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	3	2
18	1	1	-	-	1	-	2	1	6	4	16	7
19	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	3	2
21	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	3	1
22	-	-	-	-	1	-	-	-		-	1	2
23	1	1	2	2	-	1	-	-	-	-	7	4
25	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	5	3
26	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2	2
27	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	2	2
29	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Σ	11	12	4	7	12	6	9	7	14	8	90	50

Die QTL auf gleichen Chromosomen wurden je nach Position am jeweiligen Autosom und entsprechend ihrer Anzahl durchnummeriert. Diese Nummerierung wird im Folgenden verwendet, wobei die Zahl links des Punkts für das Chromosom steht, während die Zahl rechts des Punktes angibt, um den wievielten QTL dieses Chromosoms es sich handelt (Bsp.: QTL18.4, entspricht somit dem vierten QTL auf BTA18).

1.2. Ergebnis der *MLMA#1*, *MLMA-LOCO* Methode

Die *MLMA#1* ergab insgesamt 402 signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP. Diese variierten zwischen 70 auf BTA6 und Null auf BTA15, 22 und 24 (siehe Abbildung 9).

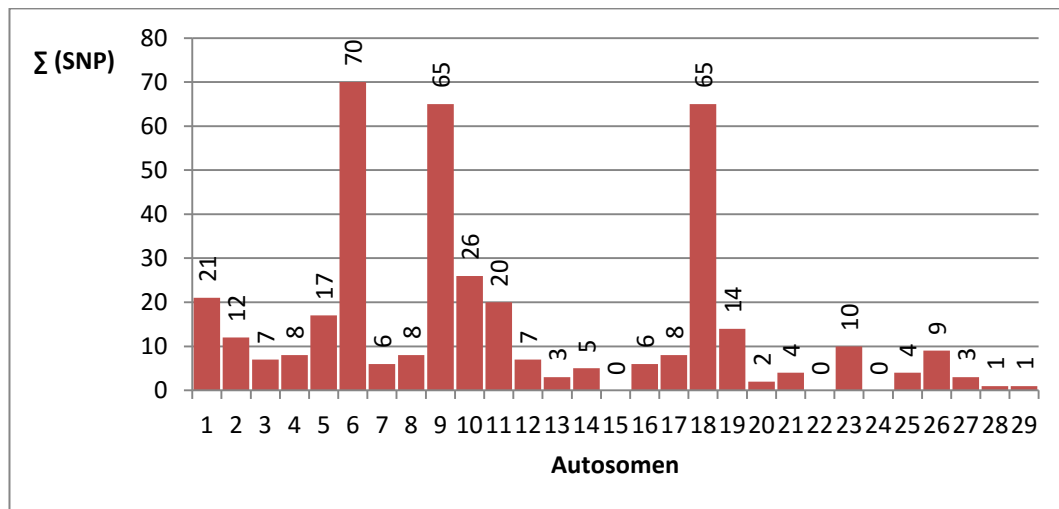


Abbildung 9: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP je Autosom.

Auf der x-Achse sind BTA1-29 aufgetragen. Über dem Balken wird die Summe der signifikanten SNP je Autosom angegeben.

Sortiert nach Merkmalen variierten die signifikanten SNP zwischen 72 für mTG und 16 für NR56R (siehe, Abbildung 10 und Tabelle 11 im Anhang).

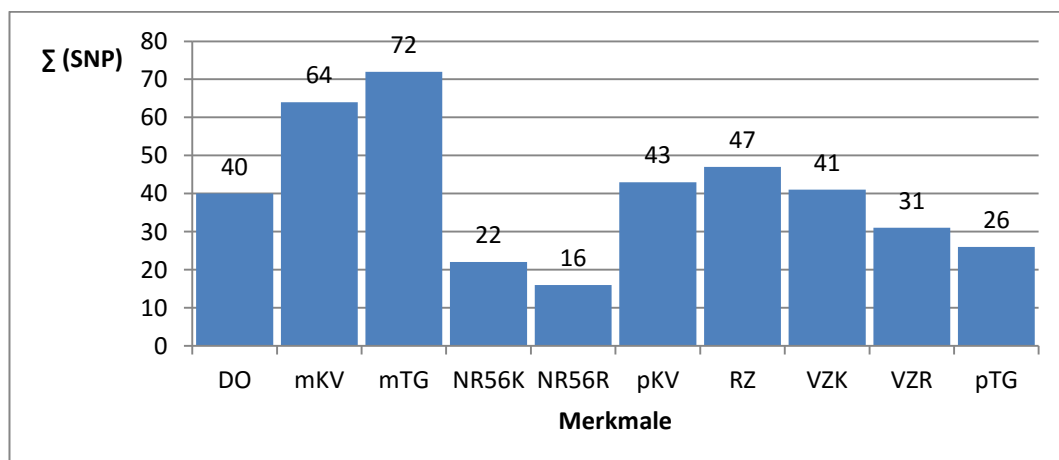


Abbildung 10: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP je Merkmal.

Auf der x-Achse sind die verschiedenen Merkmale aufgetragen. Über dem Balken wird die Summe der signifikanten SNP je Merkmal angegeben.

Als der genomweit signifikanteste SNP wurde in der *MLMA* der SNP-Marker *ARS-BFGL-NGS-109285* auf BTA18 bei 57.589.121 bp für das Merkmal pKV gefunden. Eine weitere Übersicht über die genomweit signifikanten SNP ist im Anhang in Tabelle 11 aufgelistet. Dort werden für die zehn verwendeten Merkmale die Anzahl der signifikanten SNP je Chromosom und deren Gesamtzahl gelistet.

2. BTA18-spezifische Ergebnisse

Als wichtigstes Ergebnis der *cLDLA*, *MODELL#1*, sind die zwei signifikantesten LRT_{max} auf BTA18 für pKV und pTG (siehe Abbildung 8) hervorzuheben. Wie in Abbildung 11 zu erkennen ist, sind die LRT_{max} am höchsten für pKV, pTG und mKV. Die Maxima liegen für alle genannten Merkmale bei 59.179.424 bp. Der Kurvenverlauf von pKV (grün) weist hier einen LRT -Wert von 160,92 auf und für pTG (blau) einen LRT -Wert von 102,08. Der LRT -Wert für mKV (rot) liegt bei 31,24. Die ebenfalls gezeichnete Kurve für mTG (gelb) erreicht das Signifikanzniveau, den LRT -Wert von 19,511, an dieser Position nicht.

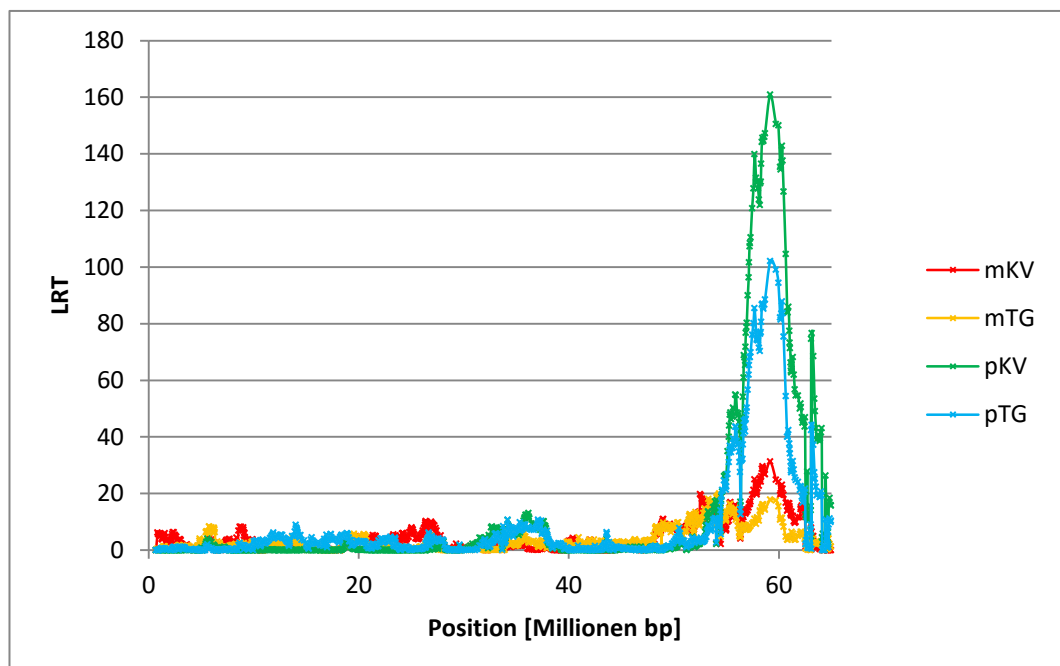


Abbildung 11: Der Graph zeigt die LRT -Kurve (*MODELL#1*) für maternalen (mKV rot) und paternalen Kalbeverlauf (pKV, grün) sowie maternale (mTG, gelb) und paternalen Totgeburt (pTG, blau) auf BTA18.

2.1. Maximum in *MODELL#1* auf BTA18 bei 59.179.424 bp

Bei Position 59.179.424 bp liegen die Maxima der in Abbildung 11 gezeigten Kurven. Hier wurden die Haplotypen, geordnet nach dem geringsten Diplotypdefekt für das signifikanteste Merkmal pKV, durchgesehen und verglichen. Deutlich

kristallisierte sich heraus, dass Tiere mit demselben Haplotyp von 24 benachbarten SNP (Q1) auf Chromosom 18 von 58.157.343 bp bis 60.978.019 bp (Tabelle 3) die Spitzenposition in der Rangfolge einnahmen. Ebenso wurden die Pedigrees der Tiere, die Haplotyp Q1 tragen, miteinander verglichen, um etwaige gemeinsame Ahnen zu identifizieren.

Tabelle 3: Namen der SNP, Positionen (Pos.) am LRT_{max} sowie Basen der SNP des Haplotyps Q1

SNP-Name	Pos. [bp]	Base
BTB-00729025	58.157.343	G
Hapmap42211-BTA-43910	58.203.733	G
ARS-BFGL-NGS-66925	58.260.521	G
ARS-BFGL-NGS-54181	58.288.756	G
ARS-BFGL-NGS-112752	58.352.626	T
Hapmap45189-BTA-43948	58.404.041	C
Hapmap23557-BTA-132578	58.478.126	C
ARS-BFGL-NGS-38212	58.496.609	A
Hapmap40906-BTA-121147	58.551.307	A
Hapmap40537-BTA-43945	58.666.276	A
BTA-29287-no-rs	58.696.066	G
BTB-01425816	59.662.778	G
ARS-BFGL-NGS-116069	59.802.319	A
ARS-BFGL-NGS-118325	60.103.953	A
ARS-BFGL-NGS-39594	60.135.318	G
Hapmap44043-BTA-24219	60.205.583	G
BTB-00730899	60.281.443	G
Hapmap39566-BTA-43960	60.319.267	A
ARS-BFGL-NGS-17877	60.377.508	G
ARS-BFGL-NGS-113553	60.525.615	G
BTB-01457720	60.774.670	G
BTB-01457878	60.813.178	A
BTB-01458106	60.854.919	C
Hapmap50515-BTA-94967	60.978.019	A

Wie COLE et al. (2014a) auf dem zehnten Weltkongress für Nutztiergenetik (World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver) vortrug, verbreitete der Bulle Osbornedale Ivanhoe seinen schlechten maternalen Haplotyp über seinen populären Enkel Round Oak Rag Apple Elevation in der Population und weist heute über 2 Millionen Enkelinnen auf. In fast allen Bullen mit Haplotyp Q1 findet sich der Bulle Elevation wieder. Falls nicht Elevation im Pedigree auftaucht, dann sein Großvater Ivanhoe. Somit bestätigen hier dargestellte Ergebnisse, dass der Ursprung des vermuteten verantwortlichen Haplotyps auf Ivanhoe zurückgeführt werden kann.

Abbildung 12 zeigt die Anzahl der Haplotypen Q1 und q1 in verschiedenen Diplo-
typeffekt-Intervallen. Die ersten beiden kleinen Maxima bis einschließlich der

Klasse $[(-7,5) - (-6,5)]$ zeigen die für Haplotyp Q1 homozygoten Tiere. Das zweithöchste Maximum $[(-4,5) - (-3,5)]$, an dem die Kurven für Haplotyp Q1 (rot) und q1 (grün) deckungsgleich verlaufen, zeigt die Heterozygoten für Haplotyp Q1. Es ist klar ersichtlich, dass die niedrigsten Diplotypeffekte ausschließlich von Q1 homozygoten Tieren verursacht werden, während die höchsten Diplotypeffekte nur von Tieren erreicht werden, die nicht Träger des Haplotyps Q1 sind, d. h. die rote Kurve befindet sich kontinuierlich auf der Nulllinie für das gesamte Spektrum der Diplotypeffekte von -2 bis 4.5.

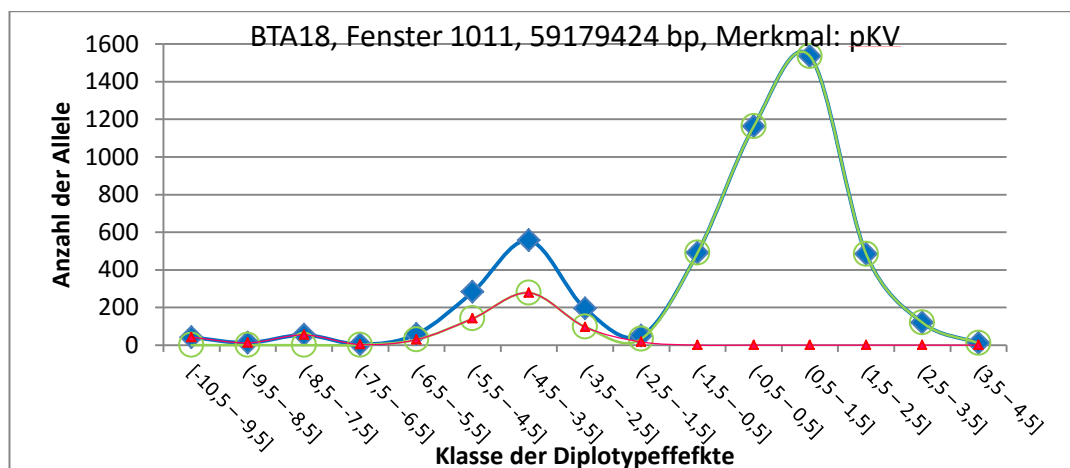


Abbildung 12: Verteilung des Haplotyps Q1 auf verschiedene Diplotypeffekt-Intervalle.

Die rote Linie mit Dreiecken zeigt die Frequenz des Haplotyps Q1 in jeder Klasse der Diplotypeffekte. Die grüne Linie mit Kreis fasst alle übrigen Haplotypen (q1) zusammen. Die blaue Linie mit Raute zeigt die Gesamtanzahl aller Haplotypen (Q1 + q1) verteilt über die Klassen der Diplotypeffekte.

2.2. Vergleich von 50K- und HD-Chip

Abbildung 13 skizziert die Region von 57.332.964 bis 61.267.887 bp auf BTA18, welche in der Haplotypenanalyse des QTL18.4 ausgewählt wurde. In diese Region liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit ($CI > 99\%$) das kausale QTL-Allel, welches in *MODELL#1* als Haplotyp Q1 identifiziert wurde. Der gelb hinterlegte Bereich zeigt wie zuvor die Länge des Haplotyps, durch den 50K-Chip eingegrenzt werden konnte. Sie entspricht der Länge des Haplotyps Q1. Der blau hinterlegte Bereich zeigt, wie mit Hilfe der HD-Chips eine weitere Eingrenzung der Länge des Haplotyps vorgenommen werden konnte. Somit wurde die Region auf einen Bereich von 58.280.048 - 58.819.413 bp durch Abbruch der Haplotypen am HD-Chip eingegrenzt. Das Tier 4 teilt mit Haplotyp 332 die Region, da genau eine Base an der Position 58.575.085 bp von Haplotyp Q1 unterschiedlich ist; für diese Base ist das Tier jedoch homozygot für ein abweichendes Allel.

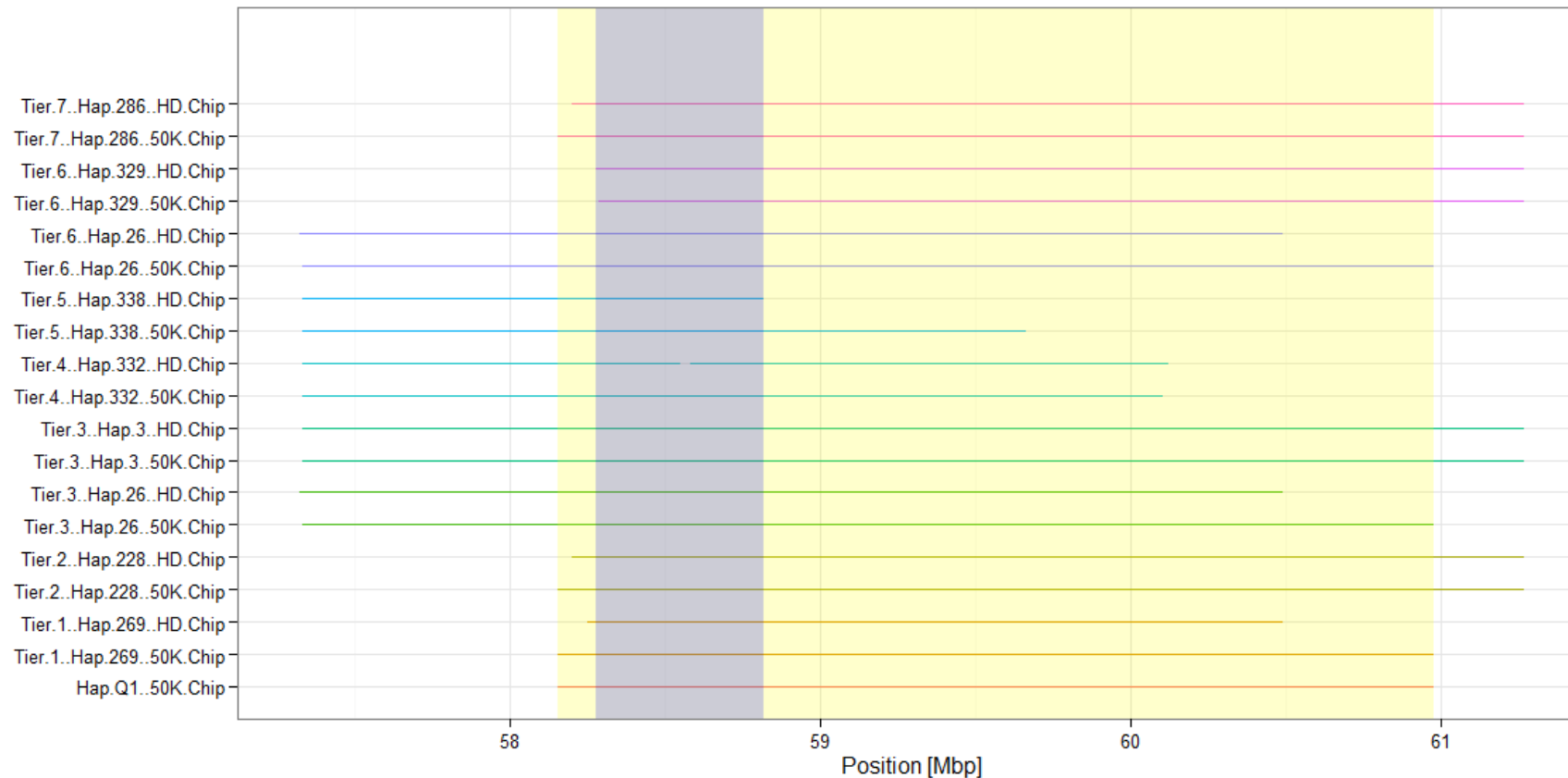


Abbildung 13: Die Region, in welcher der vermutete kausale Haplotyp (Hap) Q1 liegt. Mit verschiedenen langen Haplotypen wurde veranschaulicht, wie die Region durch die Haplotypen vom HD-Chip eingegrenzt wurde.

Der gelb hinterlegte Bereich zeigt die Größe des Haplotyp Q1, wie er mit Hilfe des 50K-Chip (Illumina) eingegrenzt werden konnte. Der blau hinterlegte Bereich zeigt den Bereich, der mit Hilfe des HD-Chips durch die Haplotypen eingegrenzt wurde. Der Haplotyp 332 unterscheidet sich an der Position 58.575.085 bp sich von Haplotyp Q1. Dieses Tier ist homozygot für den sich unterscheidenden Marker.

2.3. BTA18: MLMA#1

Diese Methode identifizierte den genomweit signifikantesten LRT_{max} auf dem SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* auf BTA18 bei 57.589.121 bp für den Phänotyp pKV. Für die durchgeführte MLMA#1 wurden SNP mit einem P -Wert $< 10^{-5}$ als signifikant erachtet. Somit erreichten auf BTA18 dann 27 SNP für pKV, 23 SNP für pTG, 7 SNP für mKV, 4 SNP für DO, 3 SNP für RZ und 1 SNP für mTG das Signifikanzniveau. Die Tabelle 4 zeigt die signifikanten SNP (grau unterlegt) für die Merkmale pKV und pTG auf BTA18. Ebenso veranschaulicht die rechte Spalte, in welchen CI eines QTL der *cLDLA* die SNP liegen, falls sie sich überschneiden. Die signifikanten SNP aller zehn Phänotypen auf BTA18, deren Position sowie eindeutiger Name können der Tabelle 12 im Anhang entnommen werden.

Tabelle 4: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP der MLMA-LOCO für paternalen Kalbeverlauf (pKV) und paternale Totgeburt (pTG).

Signifikante SNP sind grau unterlegt. Das Chromosom (Chr), der SNP-Name, die RS-Nummer, die Position des SNP und die P -Werte sowie ein möglicher überschneidender QTL bei gleichem Merkmal (QTL)

Chr	SNP-Name	RS-Nummer	Position [bp]	P [pKV]	P [pTG]	QTL
18	ARS-BFGL-BAC-36979	rs110265528	53.571.368	1,23E-05	9,59E-06	
18	ARS-BFGL-NGS-7458	rs41897446	55.590.144	7,83E-07	7,01E-06	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-93837	rs110389036	55.807.264	7,92E-09	5,59E-07	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-25104	rs109341458	56.364.657	2,46E-11	8,53E-10	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-104774	rs108984194	56.561.695	1,14E-18	7,45E-15	QTL 18.4
18	Hapmap39335-BTA-43845	rs41582494	56.642.741	3,48E-06	2,46E-06	QTL 18.4
18	Hapmap43854-BTA-43847	rs41636742	56.702.312	7,91E-08	1,35E-05	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-98028	rs41636749	57.174.711	9,43E-21	3,63E-15	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-25117	rs42843551	57.238.311	1,63E-14	1,41E-10	QTL 18.4
18	BTA-97501-no-rs	rs41665732	57.565.406	1,08E-10	1,01E-08	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-109285	rs109478645	57.589.121	3,92E-37	2,42E-30	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-6380	rs41890787	57.788.407	6,12E-07	1,30E-05	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-BAC-2333	rs109882115	58.067.310	1,39E-14	2,53E-11	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-66925	rs109032416	58.260.521	2,84E-11	1,83E-11	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-112752	rs109173807	58.352.626	1,34E-13	2,01E-11	QTL 18.4
18	Hapmap45189-BTA-43948	rs41636786	58.404.041	4,39E-09	7,94E-09	QTL 18.4
18	Hapmap40906-BTA-121147	rs41664920	58.551.307	1,42E-16	6,64E-16	QTL 18.4
18	Hapmap40537-BTA-43945	rs41582522	58.666.276	2,05E-08	1,59E-08	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-116069	rs42550256	59.802.319	1,12E-09	2,27E-07	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-118325	rs109530681	60.103.953	1,00E-15	6,83E-12	QTL 18.4
18	ARS-BFGL-NGS-39594	rs110889414	60.135.318	2,22E-15	5,81E-12	
18	ARS-BFGL-NGS-17877	rs109998463	60.377.508	3,58E-07	1,12E-07	
18	ARS-BFGL-NGS-107318	rs110912084	61.024.520	2,11E-06	8,31E-05	
18	ARS-BFGL-NGS-113023	rs109374253	61.156.737	6,09E-10	2,31E-07	
18	ARS-BFGL-NGS-49873	rs109118771	61.267.887	4,51E-08	1,47E-04	
18	ARS-BFGL-NGS-1786	rs41900248	62.571.431	2,44E-06	7,61E-07	
18	ARS-BFGL-NGS-103214	rs110508656	63.096.692	5,87E-14	4,52E-15	QTL 18.7
18	ARS-BFGL-NGS-17826	rs41902064	64.286.141	5,59E-06	6,60E-04	
	Summe signifikanter ($P < 10^{-5}$) SNP			27	23	20 SNP*

*20 SNP sind sowohl nach der MLMA-LOCO Methode signifikant, als auch innerhalb eines QTL der *cLDLA*.

Die *MLMA* wurde mit den QTL der *cLDLA* verglichen. Obwohl die Ausgangsdaten beider Analysen identisch waren, wurden nicht in allen QTL der *cLDLA* entsprechende SNP in der *MLMA* gefunden. In der *MLMA* wurden, mit der *cLDLA* übereinstimmend, SNP in den CI von 11 QTL (22 %) gefunden. Die Übereinstimmungen sind sogar geringer im Vergleich zu Studien mit anderen Populationen (siehe Kapitel 4.1.2), obwohl der Datensatz identisch ist.

3. Korrelationen

Für die Analyse am Locus des LRT_{max} bei 59.179.424 bp wurden die sogenannten Locus-Korrelationen für alle betrachteten Merkmale untereinander berechnet. Eine Locus-Korrelation zwischen zwei Merkmalen ist durch Korrelation zwischen den Diplotypeffekten für das jeweilige Merkmal, geschätzt an diesem Locus, berechnet. Somit spiegeln sich durch Locus-Korrelationen die Abhängigkeiten zwischen den an diesem Locus liegenden QTL-Substitutionseffekten wider. Ebenfalls wurden die genomweiten Korrelationen für die 2527 Bullen aus den vom VIT angegebenen Zuchtwerten berechnet. Weiterhin wurden genomweite Korrelationen vom VIT zum Vergleich angefordert. Diese Korrelationen spiegeln den genomweiten Durchschnitt der oben erwähnten Locus-Abhängigkeiten wider. Die nachfolgende Tabelle 5 zeigt die Korrelationen der Punktanalyse an der Position des LRT_{max} bei 59.172.424 bp und die vom VIT angegebenen genomweiten Korrelationen. Im Vergleich zu den Daten des VIT fällt vor allem auf, dass am Ort der Analyse durchgängig sehr starke Korrelationen vorherrschen. Am auffälligsten ist, dass der paternale Kalbeverlauf mit dem maternalen Kalbeverlauf an der Position des LRT_{max} eine starke positive Korrelation (0,66) aufweist. Die genomweiten Daten vom VIT weisen hier keine Korrelation auf (0,04).

Tabelle 5: Genomweite Korrelationen und Korrelationen nach Spearman des LRT_{max} .

Über der Diagonalen finden sich Rangkorrelationen nach Spearman für alle Merkmale an der Position des LRT_{max} bei 59.172.424 bp. In der Diagonalen finden sich die vom VIT angegebenen Heritabilitäten (in %), unter der Diagonalen finden sich genomweite Korrelationen geschätzt vom VIT

VIT\ LRT_{max}	NR56R	NR56K	VZR	RZ	VZK	DO	pKV	mKV	pTG	mTG
NR56R	1,2%	0,83	0,76	0,23	0,49	0,38	0,45	0,56	0,49	0,49
NR56K	0,70	1,5%	0,75	0,40	0,76	0,62	0,50	0,57	0,57	0,57
VZR	0,71	0,49	1,4%	0,40	0,71	0,58	0,60	0,62	0,77	0,77
RZ	-0,09	-0,23	0,19	3,9%	0,71	0,90	0,53	0,40	0,43	0,43
VZK	0,42	0,60	0,64	0,44	1,0%	0,93	0,58	0,53	0,64	0,64
DO	0,20	0,21	0,49	0,85	0,84	2,6%	0,55	0,46	0,54	0,54
pKV	0,11	0,12	0,09	0,19	0,19	0,22	4,8%	0,66	0,87	0,63
mKV	0,06	0,07	0,08	-0,05	0,14	0,06	0,04	3,9%	0,67	0,81
pTG	0,02	0,04	-0,03	-0,02	0,04	0,01	0,73	0,06	2,7%	0,72
mTG	0,14	0,19	0,20	0,06	0,29	0,21	0,05	0,71	0,05	5,4%

Auch in Tabelle 6 weisen die genomweiten Korrelationen für die 2527 Bullen (Tierset für *cLDLA*) fast keine Korrelation (0,08) auf. Stellt man diesen Vergleich paternal – maternal ebenfalls für die Totgeburtenrate an, so zeigt sich ein sehr ähnliches Bild: starke positive Korrelation (0,72) bei der Punktanalyse, sehr schwache Korrelation (0,05) in den genomweiten Daten des VIT (Tabelle 5) und nur eine marginal höhere (0,08) bei denen der verwendeten 2527 Bullen (Tabelle 6). Überwiegend starke bis sehr starke positive Korrelationen finden sich im Vergleich zwischen den Merkmalen paternaler Kalbeverlauf und paternale Totgeburt für sowohl die Punktanalyse (0,87), die VIT-Korrelationen (0,73) und den Korrelationen der Zuchtwerte aus den verwendeten 2527 Bullen (0,82). Ebenso verhalten sich die Korrelationen des maternalen Kalbeverlaufes mit der maternalen Totgeburt für die Punktanalyse (0,81), genomweiten VIT-Daten (0,71) und Zuchtwerte (0,72). Vergleicht man die Korrelationen der Merkmale mKV und pTG, so liegt eine starke positive Korrelation für die Punktanalyse (0,67) vor, jedoch eine geringe für die genomweiten VIT-Daten (0,06) und die Zuchtwerte (0,03).

Nicht unerwähnt bleiben sollte die durchgängig sehr starke positive Korrelation für die Merkmale DO - RZ und DO - VZK für Punktanalyse (0,91 und 0,92), VIT-Daten (Tabelle 5) für genomweite Korrelation (0,84 und 0,85) sowie Zuchtwertdaten der 2527 Bullen (Tabelle 6) für genomweite Korrelation (0,84 und 0,82). In Tabelle 6 sind für die Punktanalyse die Korrelationen nach Pearson dargestellt, jedoch empfiehlt es sich die Rangkorrelationen nach Spearman zu verwenden, da die Reihenfolge der korrelierenden Wertepaare bekannt ist und mit einfließt. Da jedoch die genomweiten Korrelationen immer nach Pearson geschätzt werden, wurden auch diese vollständigshalber geschätzt. Es ist ersichtlich, dass es zwi-

schen beiden Schätzverfahren zu keinem wesentlichen Unterschied in den Ergebnissen kommt und die Abweichungen meist vernachlässigbar sind. Ausnahmen bilden die Korrelationen NR56R - pKV mit einer Differenz von 0,14 und VZR - pKV mit einer Differenz von 0,20.

Tabelle 6: Korrelationen des VIT (2527) und Korrelationen nach Pearson des LRT_{max} .

Über der Diagonalen finden sich Korrelationen nach Pearson für ausgewählte Merkmale an der Position des LRT_{max} bei 59.172.424 bp. In der Diagonalen finden sich die vom VIT angegebenen Heritabilitäten (in %), unter der Diagonalen finden sich genomweite Korrelationen, nach Pearson, der 2527 Bullen des Datensatzes (Zuchtwerte als Ausgangsmatrix zur Berechnung)

2527\ LRT_{max}	NR56R	NR56K	VZR	RZ	VZK	DO	pKV	mKV	pTG	mTG
NR56R	1,2%	0,84	0,78	0,26	0,55	0,43	0,59	0,66	0,65	0,56
NR56K	0,76	1,5%	0,75	0,41	0,78	0,64	0,58	0,66	0,61	0,62
VZR	0,64	0,54	1,4%	0,40	0,74	0,60	0,80	0,72	0,83	0,80
RZ	-0,12	-0,24	0,16	3,9%	0,69	0,91	0,48	0,40	0,38	0,35
VZK	0,47	0,64	0,70	0,38	1,0%	0,92	0,60	0,60	0,60	0,65
DO	0,20	0,23	0,51	0,84	0,82	2,6%	0,55	0,52	0,50	0,52
pKV	0,10	0,13	0,04	0,06	0,10	0,10	4,8%	0,74	0,97	0,68
mKV	0,09	0,11	0,13	0,05	0,15	0,12	0,08	3,9%	0,75	0,86
pTG	0,06	0,08	0,00	0,01	0,04	0,03	0,82	0,03	2,7%	0,73
mTG	0,14	0,2	0,18	0,03	0,25	0,17	0,06	0,72	0,08	5,4%

4. Absicherung der Ergebnisse und Validierung der *cLDLA*

Dieses Kapitel beginnt mit den Ergebnissen einer Literaturrecherche bezüglich der Resultate anderer Forschungsgruppen zu Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmalen in Milchviehrrassen. Enthalten sind auch Unterkapitel zu Ergebnissen von genomweiten Assoziationsstudien sowie zu QTL die zwar nicht für die hier betrachteten Merkmale kartiert wurden, aber für solche, die mit diesen in Zusammenhang stehen.

Darauf folgen die Ergebnisse der *cLDLA* basierend auf deregressierten Zuchtwerten, die exemplarisch für BTA18 durchgeführt wurde und die Frage klären sollte, inwieweit sich diese Ergebnisse von denen der verwendeten regressierten Zuchtwerte unterscheiden.

Abschließend wurden für BTA18 noch verschiedene Modelle berechnet, die den hier verwendeten Haplotyp-basierten Ansatz der *cLDLA* im Vergleich zur SNP-basierten GWAS evaluieren und so die Ergebnisse festigen.

4.1. Übereinstimmungen mit den Ergebnissen der Literatur

Genomweit konnten für das *MODELL#1* insgesamt 50 QTL identifiziert werden. Eine detaillierte Auflistung ist im Anhang in Tabelle 9 zu finden.

Die in der Literatur gefundenen QTL sind im Anhang in Tabelle 10 gelistet. Es

wurden nur solche QTL in der Literatur berücksichtigt, die in den 2-LOD- Konfidenzintervallen der QTL liegen oder sich überschneiden. ‚Direkte Treffer‘ werden im folgenden QTL genannt, deren 2-LOD-Intervalle mit bereits publizierten QTL desselben Merkmals überschneiden.

Weiterhin sind auch QTL in der Literatur gefunden worden, welche sich mit den 2-LOD-Intervallen der *cLDLA* überschneiden, aber nicht für das gleiche Merkmal kartiert wurden. Sofern jedoch ein offensichtlicher oder bereits in der Literatur bestätigter Zusammenhang des hier kartierten Merkmals mit dem Merkmal aus der Literatur besteht, werden diese QTL im Folgenden als ‚indirekte Treffer‘ dargestellt. Der Zusammenhang der Merkmale miteinander wird in der Diskussion genauer erörtert.

4.1.1. QTL mit ‚direkt‘ zutreffenden Übereinstimmungen

Im Folgenden sind zunächst die ‚direkten Treffer‘ für sechs QTL mit bereits publizierten QTL aufgezählt:

Für QTL 7.1 (pKV & pTG) wurden Übereinstimmungen mit zwei QTL für die Merkmale pKV und pTG aus der Studie von KÜHN et al. (2003) gefunden.

Direkte Bestätigung findet QTL 18.3 (mTG) im vom THOMASEN et al. (2008) ebenfalls für mTG gefundenen QTL.

Auch QTL 18.4 (pKV & pTG) wird direkt bestätigt durch die QTL für pKV von SAHANA et al. (2011) und auch SEIDENSPINNER et al. (2009); ebenso kartierten beide Studien einen QTL für pTG.

QTL 18.7 (pKV & pTG) findet direkte Bestätigung durch den QTL (BM2078 - TGLA227) für pTG von SEIDENSPINNER et al. (2009). THOMASEN et al. (2008) kartierte den QTL (BM6507 - TGLA227) für pKV, pTG und ein ‚indirekt‘ passendes Merkmal (siehe Kapitel 4.1.3): paternale Größe des Kalbs bei der Geburt.

Für QTL 19.1 (pKV) wurde in der Studie von SAHANA et al. (2011) ein überschneidender QTL für ein gleiches Merkmal gefunden und für QTL 25.1 (mKV) fand sich ein QTL aus der Studie von SEIDENSPINNER et al. (2009) für mKV.

4.1.2. ‚Direkte‘ Übereinstimmungen mit signifikanten SNP aus GWAS-Studien bezüglich Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmalen der letzten Jahre

Im Verlauf der letzten Jahre befassten sich diverse Studien mit Fruchtbarkeits- und/oder Kalbmerkmalen bei HF. Diesen liegen unterschiedliche Populationen und Kartierungstechniken zugrunde (z. B. COLE et al., 2009, HÖGLUND et al., 2009b, HÖGLUND et al., 2009a, SEIDENSPINNER et al., 2009, BRAND et al., 2010, SAHANA et al., 2010, SAHANA et al., 2011, HÖGLUND et al., 2012, MINOZZI et al., 2013, COLE et al., 2014b, HÖGLUND et al., 2014, PURFIELD et al., 2014). Die in letzter Zeit am häufigsten gebräuchlichen genomweiten Assoziationsstudien wurden beispielsweise von COLE et al. (2009), SAHANA et al. (2010), MALTECCA et al. (2011), OLSEN et al. (2011), SAHANA et al. (2011), HÖGLUND et al. (2012), MINOZZI et al. (2013), COLE et al. (2014b), HÖGLUND et al. (2014) und PURFIELD et al. (2014) durchgeführt. Die Ergebnisse der Studien wurden mit den in der *cLDLA*, *MODELL#1*, kartierten QTL der vorliegenden Arbeit verglichen. Die meisten Übereinstimmungen wurden mit der Studie von HÖGLUND et al. (2014), bezüglich Fruchtbarkeitsmerkmalen gefunden. Dafür wurden 3475 HF, 4998 nordische Rotvieh- und 1225 Jersey Bullen verwendet. Gefolgt von der vorherigen Studie die HÖGLUND et al. (2012) für Kalbmerkmale durchführten. In den übrigen Studien waren die übereinstimmenden Ergebnisse relativ gering.

Die Studie von HÖGLUND et al. (2014) stimmt mit den Ergebnissen der *cLDLA* zu 48 % (13/27), bezüglich Fruchtbarkeitsmerkmalen, überein. Beachtet wurden für diese Rechnung aber nur für gleiche Merkmale assoziierte SNP und QTL (31 QTL für Fruchtbarkeitsmerkmale, abzüglich 4 QTL für DO, die HÖGLUND et al. aber nicht beachten; somit werden 27 von 50 QTL berücksichtigt).

Es wurden mit der *cLDLA* übereinstimmende SNP für RZ mit den CI der QTL 4.1 (DO, RZ), QTL 5.1 (DO, RZ), QTL 5.4 (RZ), QTL 6.2 (DO, RZ) und QTL 23.1 (DO, RZ) gefunden. Im Bereich des CI des QTL 4.3 (VZK) wurde ein SNP für VZK gefunden. Mit dem CI des QTL 10.1 (DO, RZ, VZK) wurden übereinstimmende SNP für RZ und VZK gefunden. Im Bereich des CI von QTL 9.1 (VZK) wurden übereinstimmende SNP für VZK gefunden und für QTL 11.1 (NR56R) wurden ebenfalls SNP für NR56R kartiert. Weitere SNP für VZK wurden in den Bereichen der CI von QTL 11.4 (VZK), QTL 14.2 (VZK) und QTL

18.5 (DO, VZK) sowie QTL 26.1 (VZK) gefunden. Weiterhin kam es zu übereinstimmenden SNP für NR56K und NR56R mit dem CI des QTL 23.3 (NR56K, NR56R).

In einer vorherigen Studie von HÖGLUND et al. (2012) an einem kleineren Datensatz (4258 HF Bullen) wurden für die 19 QTL, welche in der *cLDLA* nur für Kalbmerkmale kartieren, nur drei mit den CI der QTL übereinstimmende SNP (15,78 %) gefunden. Hierbei wurde der SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* auf BTA18 im CI des QTL 18.4 doppelt gezählt, er ist für pKV und pTG signifikant. Ein dritter SNP ist *rs41572366* für mKV auf BTA25 im CI des QTL 25.2.

Zwischen den folgenden GWAS und der *cLDLA* kam es zu sehr geringen Übereinstimmungen. Im Vergleich mit einer aktuellen Studie von PURFIELD et al. (2014) konnten nur zwei mit der *cLDLA* übereinstimmende SNP gefunden werden. PURFIELD et al. (2014) führten eine GWAS für Kalbmerkmale mit 4683 HF Bullen aus Irland durch. Der SNP *ARS-BFGL-NGS-98379* für pKV stimmt mit dem CI des QTL 7.1 (pKV & pTG) überein. Ebenfalls kartierten PURFIELD et al. den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* für pKV, übereinstimmend mit dem CI des QTL 18.4. Sie stimmten somit mit COLE et al. (2009) und der hier durchgeführten *MLMA*#1 überein.

Im Vergleich mit MINOZZI et al. (2013) konnte ein übereinstimmender SNP (*rs29014623*) mit dem CI des QTL 18.1 für RZ gefunden werden. In der Studie wurden 2139 italienische HF Bullen auf Fruchtbarkeitsmerkmale untersucht.

Die Studie von SAHANA et al. (2010) untersuchte Fruchtbarkeitsmerkmale in dänischen und schwedischen Holstein-Friesian. Ein mit RZ assoziierter SNP (*ss86337596*) konnte übereinstimmend mit der *cLDLA* gefunden werden. Der übereinstimmende SNP liegt im CI des QTL 6.2 für DO und RZ (87.658.304 - 92.843.432 bp).

4.1.3. QTL mit ‚indirekt‘ zutreffenden Übereinstimmungen

In der Literatur wurden auch QTL gefunden, die sich mit den QTL der *cLDLA* überschneiden, aber nicht für das gleiche Merkmal kartiert wurden. Jedoch besteht ein offensichtlicher oder bereits in der Literatur bestätigter Zusammenhang des hier kartierten Merkmals mit dem Merkmal aus der Literatur. Der Zusammenhang der Merkmale miteinander wird in der Diskussion genauer erörtert.

Das erste Beispiel hierfür findet sich auf BTA5, wo für den CI des QTL 5.2 (pKV & pTG, 55.978.176 - 63.580.096 bp) und/ oder den CI des QTL 5.3 (pKV, 63.708.608 - 68.424.352 bp) QTL gefunden wurden, die im Einklang mit den Ergebnissen der *cLDLA* stehen: CRUICKSHANK et al. (2004) fand einen QTL für Zwillinge für den Bereich von 53.296.546 - 62.138.446 bp, ebenso wie KIM et al. (2009) von 62.125.530 - 71.561.898 bp, MEUWISSEN et al. (2002) von 62.125.530 - 62.138.446 bp und LIEN et al. (2000) von 66.532.877 - 71.561.898 bp. SCHROOTEN et al. (2000) konnte für die drei Merkmale Statur, Körpergröße und Geburtsgewicht einen QTL von 66.532.877 - 97.454.531 bp kartieren.

Das CI des QTL 18.7 (pKV & pTG, 62.624.960 - 64.521.568 bp) überschneidet mit dem von KÜHN et al. (2003) gefundenen QTL für mTG (BM2078 - TGLA227). THOMASEN et al. (2008) kartierte neben den beiden direkt bestätigten Merkmalen am QTL (BM6507 - TGLA227) für pKV und pTG auch das ‚indirekt‘ bestätigte Merkmal paternale Größe des Kalbs bei der Geburt.

Ein weiterer QTL, in dessen CI ebenfalls ein ‚indirekt‘ zutreffendes Merkmal gefunden wurde, ist der QTL19.1 (pKV, 31.072.674 - 33.523.396 bp). SAHANA et al. (2011) kartierten an der Position 25.837.047 - 41.372.598 bp paternale Größe des Kalbs bei Rindern und Kühen, mKV, den Kalbeindex, aber auch den direkt zutreffenden pKV.

Auf BTA25 wurde erneut mit SAHANA et al. (2011) eine Übereinstimmung gefunden. Das CI des QTL 25.2 (mKV, 19.446.734 - 27.005.838 bp) überschneidet mit dem QTL (16.113.126 - 22.890.173 bp), der 2011 für die Merkmale paternal beeinflusste Größe des Kalbs bei Kühen, maternal beeinflusste Größe des Kalbs bei Rindern und dem Kalbeindex (s.o.) kartiert wurde.

4.2. Deregressierte Zuchtwerte auf BTA18

Da inzwischen für viele GWAS deregressierte Zuchtwerte, anstelle der regressierten Zuchtwerte, verwendet werden (z. B. COLE et al., 2009, SEIDENSPINNER et al., 2009, COLE et al., 2011, HÖGLUND et al., 2012, COLE et al., 2014b, HÖGLUND et al., 2014, PURFIELD et al., 2014, PURFIELD et al., 2015), wurden *cLDLA* und *MLMA* zum Vergleich auch mit deregressierten Werten durchgeführt, um einen möglichen Benefit der Deregression bezüglich *cLDLA* und *MLMA* zu überprüfen.

Der Verlauf der Kurven für alle vier Kalbemerkmale (paternale und maternale Kalbeverläufe und Totgeburt) sind parallel zueinander (siehe Beispiel Abbildung 14 und Abbildung 15), wobei die Höhe des Kurvenverlaufs der deregressierten Daten geringer ist als der Verlauf der regressierten Zuchtwerte.

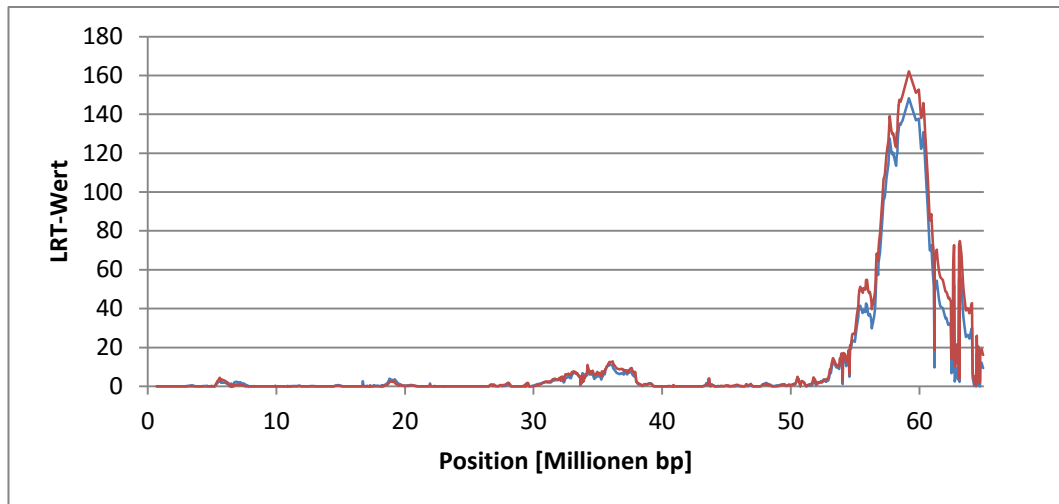


Abbildung 14: Vergleich der Ergebnisse der deregressierten Zuchtwerte (blau) mit den unveränderten (regressierten) Zuchtwerten (rot) des *MODELL#1* für das Merkmal paternaler Kalbeverlauf auf BTA18.

Eine Ausnahme bildet das Merkmal pTG. Für pTG ist der Verlauf der Kurve der deregressierten Zuchtwerte oberhalb derer der regressierten Zuchtwerte. Abbildung 14 zeigt den Verlauf der deregressierten Zuchtwerte im Vergleich zu den regressierten Daten aus *MODELL#1* für das Merkmal pKV; pTG ist in Abbildung 15 dargestellt. Die Korrelation nach Pearson der unveränderten (regressierten) Zuchtwerte mit den deregressierten Zuchtwerten des *MODELL#1* liegt bei 0,9964 für pKV, 0,9882 für pTG, 0,9661 für mKV und bei 0,9350 für mTG.

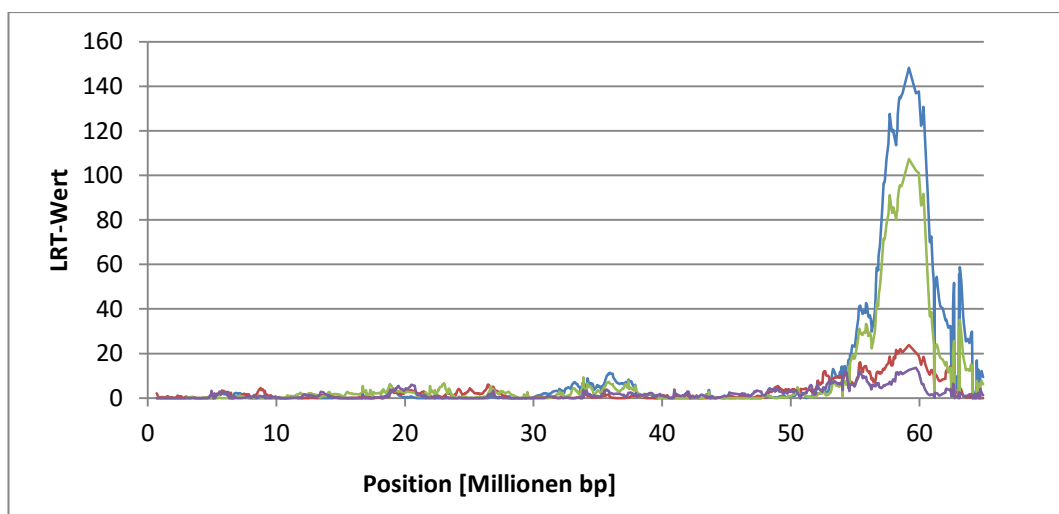


Abbildung 15: Verlauf für die Kurven der Kalbemerkmale mit deregressierten Zuchtwerten für *MODELL#1*.

Gezeigt werden paternaler (blau) und maternaler (rot) Kalbeverlauf sowie paternale (grün) und maternale (violett) Totgeburt auf BTA18.

Die *MLMA* mit den deregressierten Zuchtwerten zeigt einen sehr ähnlichen, parallelen Verlauf für pKV (Abbildung 16) und pTG (Abbildung 17).

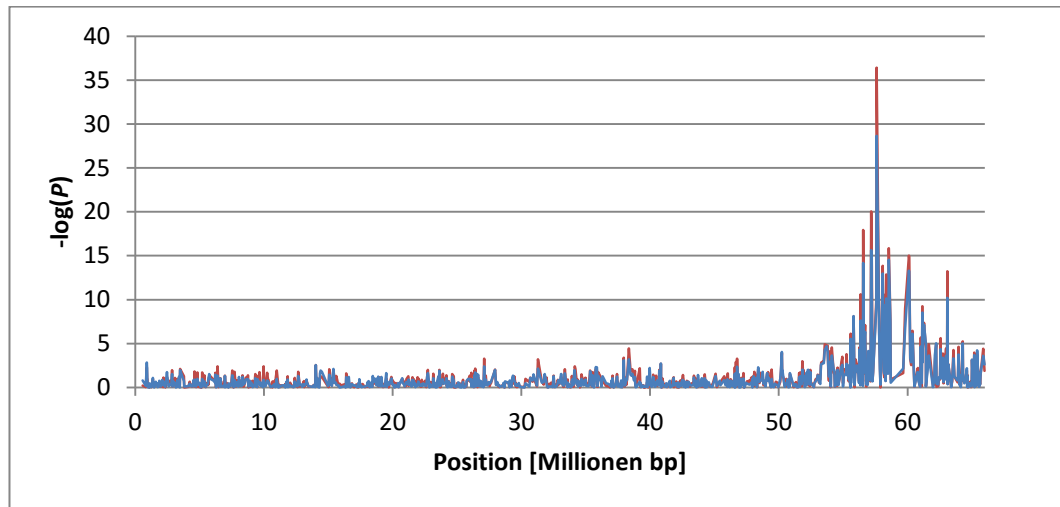


Abbildung 16: Der $-\log(P)$ für den paternalen Kalbeverlauf der regressierten Zuchtwerte (rote Linie) im Vergleich zu den deregressierten Zuchtwerten (blaue Linie) auf BTA18.

Wie bei der *cLDLA* stellen sich die Kurven der deregressierten Daten im Vergleich zu den regressierten Daten auch bei der *MLMA* parallel dar, wobei die Kurve der deregressierten Werte ebenfalls etwas niedriger verläuft (vgl. pKV, Abbildung 16; pTG, Abbildung 17).

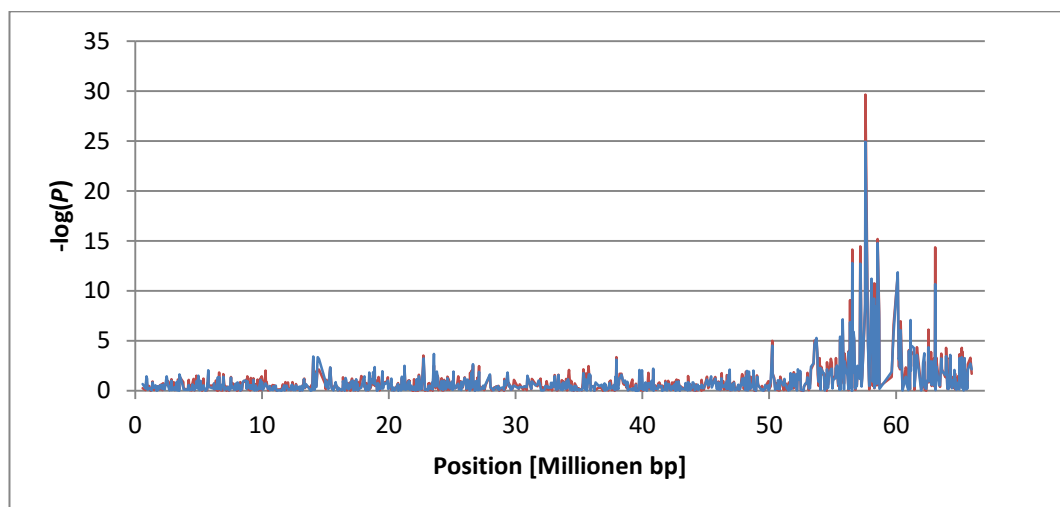


Abbildung 17: Der $-\log(P)$ für die paternale Totgeburt der regressierten Zuchtwerte (rote Linie) im Vergleich zu den deregressierten Zuchtwerten (blaue Linie) auf BTA18.

Die Korrelationen der negativ dekadischen Logarithmen der P -Werte (wie in den Abbildungen gezeichnet) zwischen den deregressierten Zuchtwerten und den regressierten Zuchtwerten für pKV (0,98) und pTG (0,97) sind sehr stark und belegen was die Abbildungen vermuten ließen. Im Vergleich zu den regressierten Werten verlaufen die deregressierten Werte parallel, aber auf niedrigerem Niveau.

4.3. Modelle zur Validierung und Sequenzdatenvergleich

Im Folgenden werden nun die Ergebnisse der zusätzlich durchgeführten Modelle präsentiert, mit denen die Methode validiert wurde. Diese umfassen fünf weitere *cLDLA*-Modelle – und ein weiteres *MLMA*-Modell.

4.3.1. *MODELL#2: SNP ARS-BFGL-NGS-109285* aus dem Markerset entfernt

Der hier entfernte SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* war der genomweit signifikanteste SNP der *MLMA* und wurde ebenso in anderen Studien als sehr signifikant für Kalbmerkmale kartiert. *MODELL#2* ergab keine signifikanten Unterschiede zur durchgeführten Analyse von *MODELL#1* (siehe Abbildung 18). Beispielhaft sind in untenstehender Grafik die Kurven für pKV *MODELL#1* (hellblau) und *MODELL#2* (grün mit Rauten) zu sehen, die deckungsgleich sind. Ebenso werden die Ergebnisse der *MLMA#1* (rot mit Dreiecken) gezeigt. Die berechneten Korrelationen (Pearson) zwischen den *MODELLEN#1* und 2 sind jeweils 0,98 für pKV, mKV und pTG. Die Korrelation für das Merkmal mTG liegt mit 0,99 noch höher.

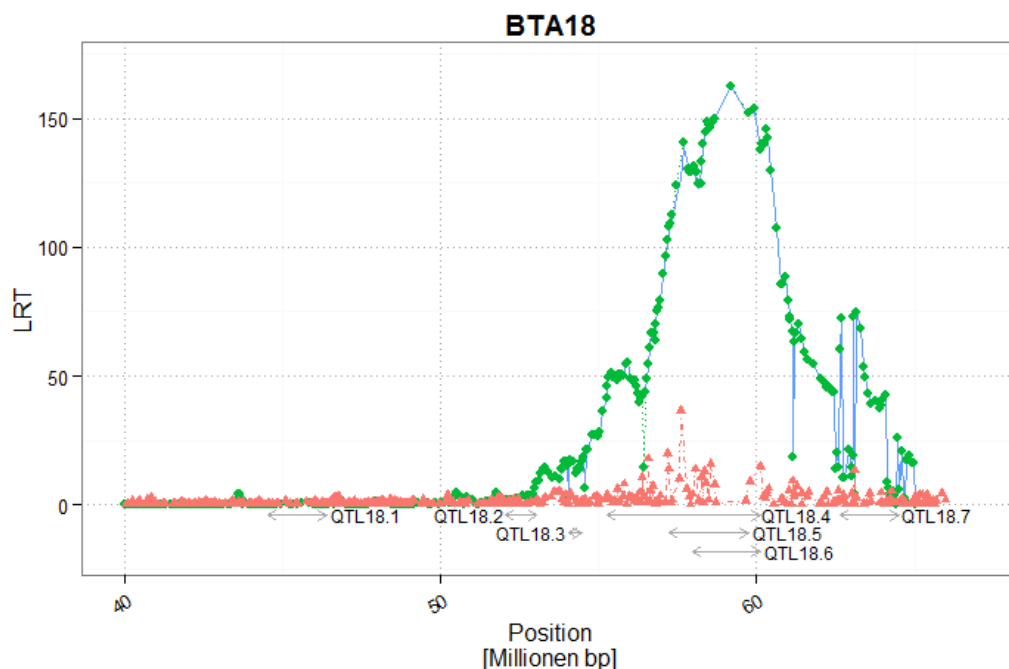


Abbildung 18: Vergleich für das Merkmal paternaler Kalbeverlauf für *MODELL#1*, *MODELL#2* und der *MLMA#1*.

Die vollständige *cLDLA* (= *MODELL#1*; durchgehende Linie, hellblau) und die *cLDLA* ohne den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* (= *MODELL#2*; grüne, gestrichelte Linie mit Rauten) sowie die *MLMA#1* (rote Strichpunkt-Linie mit Dreiecken, jedes Dreieck ist auf der Position eines SNP) werden dargestellt. Zur weiteren Orientierung sind die QTL18.1-7 unterhalb der x-Achse eingezeichnet. Da diese QTL auch für Merkmale kartieren, die hier nicht gezeichnet sind, sind auf den dargestellten Kurven z. T. keine LRT_{max} erkennbar. Dargestellt ist nur der Ausschnitt von 40 bis 70 Millionen bp auf BTA18.

4.3.2. *MODELL#3: Haplotyp Q1 als fixer Effekt*

Es konnten alle 55 Tiere mit einem Diplotypeffekt (< -7.3) als homozygot für den gleichen Haplotyp erkannt werden. Dieser Haplotyp (Q1) bestand aus 24 SNP von 58.157.353 bp bis 60.978.019 bp. Alle 562 Tiere mit einem geschätzten Diplotypeffekt zwischen $-7,3$ und $-2,0$ wurden als heterozygot erkannt, mit jeweils einer Kopie von Q1 und diversen anderen Haplotypen, die zusammenfassend als q1 bezeichnet werden. Die 55 für Haplotyp Q1 homozygoten Tiere und die 562 für Haplotyp Q1 heterozygoten Tiere repräsentieren 13,30 % aller Haplotypen (672 von 5054 möglichen Haplotypen). Alle verbleibenden 1910 Tiere mit einem Diplotypeffekt größer als $-2,0$ waren homo- oder heterozygot für verschiedene q1 Haplotypen. Die durchschnittlichen Diplotypeffekte der QTL-Allele für pKV sind dabei -8.78 (± 1.33), -4.12 (± 2.12) und 0.61 (± 3.79) für Q1/Q1-, Q1/q1- und q1/q1-Tiere.

In *MODELL#3* wurde dann, entsprechend der Einteilung nach Diplotypstatus (Q1/Q1, Q1/q1, q1/q1), ein fixer Effekt integriert. Im Gegensatz zum Ausschluss des einzelnen SNP, wie in vorheriger *cLDLA*, war die *cLDLA MODELL#3* in der Lage, die *LRT* Maxima für pKV und pTG signifikant zu beeinflussen. Abbildung 19 zeigt, dass die beiden Modelle bis etwa 50 Mbp gleich verlaufen.

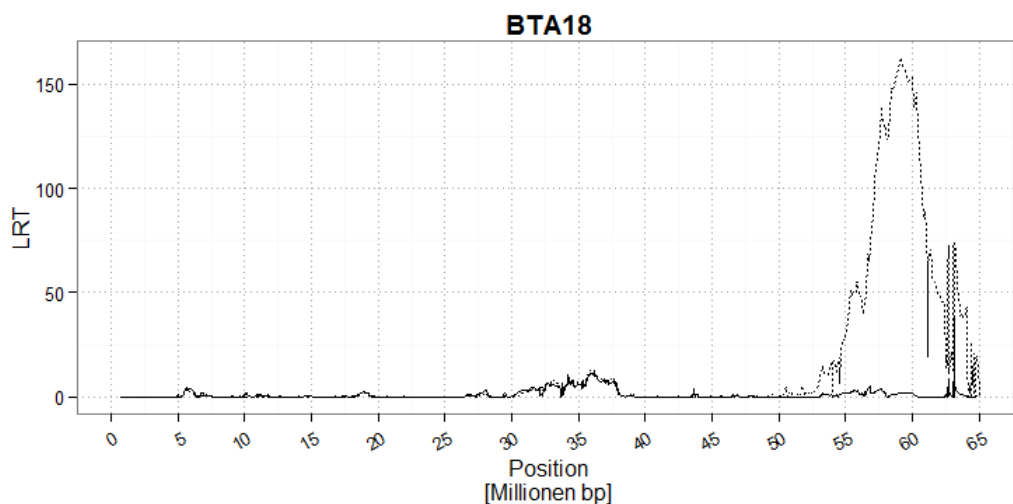


Abbildung 19: *MODELL#3* (durchgehende Linie) verglichen mit der initialen *cLDLA* (= *MODELL#1*; gestrichelte Linie) jeweils für paternalen Kalbeverlauf auf BTA18.

Wie Abbildung 20 und Abbildung 21 zeigen geht die Kurve in dem gezeigten Bereich (ab 50 Mbp) fast vollständig gegen Null. Während sich für alle Kalbemerkmale auf BTA18 die Maxima in diesem Bereich signifikant verändern und unter das Signifikanzniveau fallen, verändern sich die *LRT*-Spitzen für die

Fruchtbarkeitsmerkmale VZK und DO nur marginal und bleiben weiterhin signifikant (Abbildung 22).

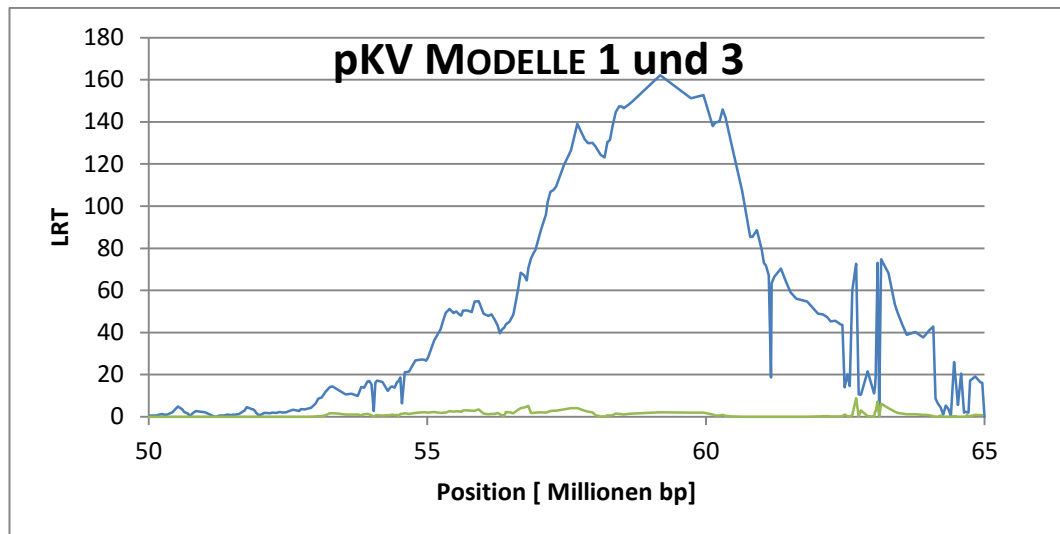


Abbildung 20: Paternaler Kalbeverlauf für *MODELL#1* (blaue Linie) und *MODELL#3* (grüne Linie).

MODELL#3 berücksichtigt den Haplotyp Q1 als fixen Effekt. Gezeigt wird auf BTA18 nur der Ausschnitt 50 bis 65 Millionen bp.

Die Korrelation zwischen *MODELL#1* und *MODELL#3* beträgt 0,17 für pKV und -0,09 für pTG im Bereich des Maximums des Kurvenverlaufes aus *MODELL#1*.

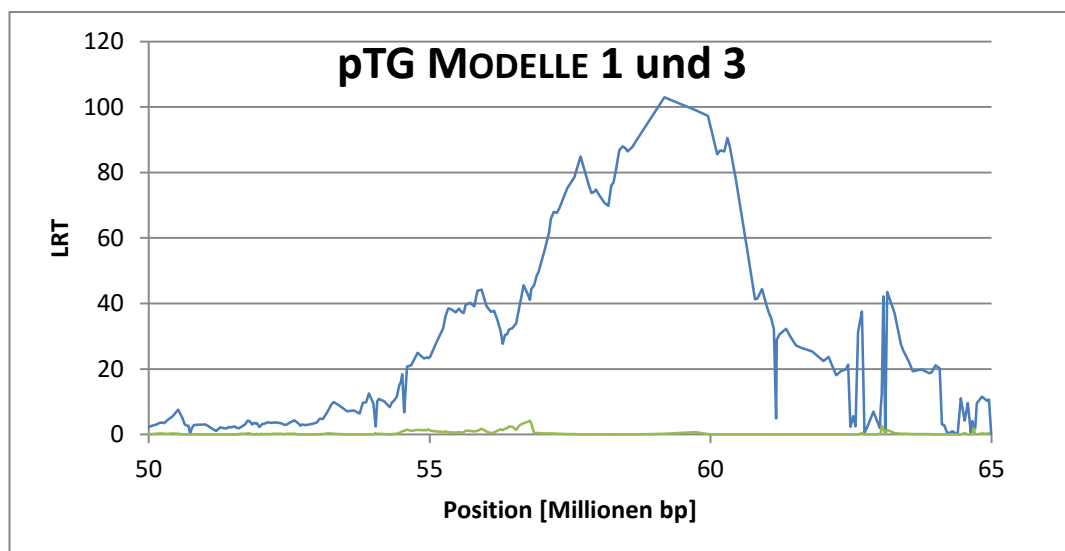


Abbildung 21: Paternale Totgeburt für *MODELL#1* (blaue Linie) und *MODELL#3* (grüne Linie).

MODELL#3 berücksichtigt den Haplotyp Q1 als fixen Effekt. Gezeigt wird auf BTA18 nur der Ausschnitt 50 bis 65 Millionen bp.

Für das Merkmal DO mit einem Maximum bei 58.232.128 bp fiel der *LRT*-Wert um ein Sechstel von 30,2 auf 24,761. Für das Merkmal VZK mit einem Maximum bei 58.378.336 bp fiel der *LRT*-Wert um ein Drittel von 30,82 auf 20,04.

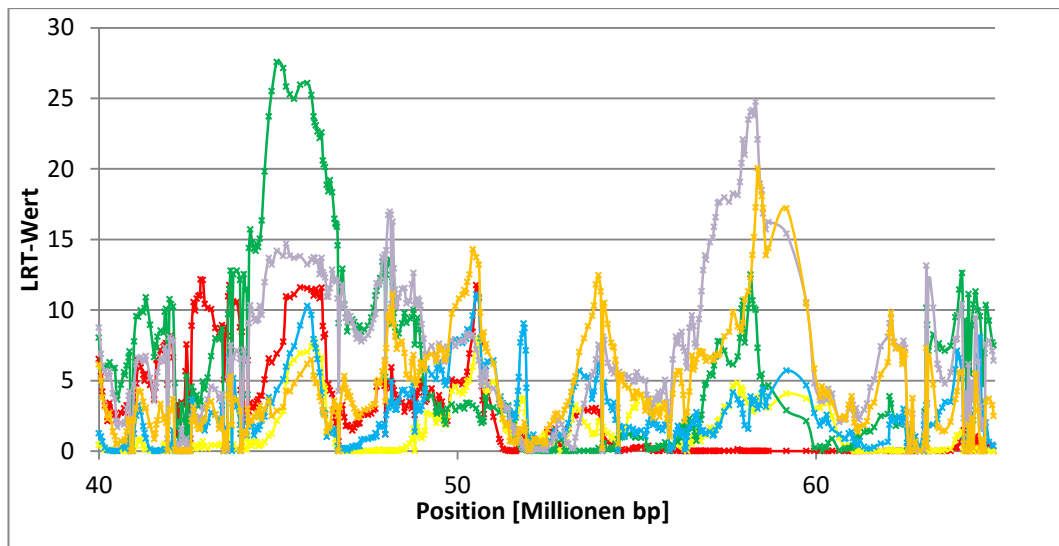


Abbildung 22: Fruchtbarkeitsmerkmale in *MODELL#3*.

Gezeigt werden Rast- (grasgrün) und Günstzeit (violett), Non-Return-Rate Rind (gelb) und Kuh (blau) sowie Verzögerungszeit Rind (rot) und Kuh (orange) auf BTA18 im Bereich 40 bis 65 Millionen bp.

4.3.3. *MODELL#4: SNP ARS-BFGL-NGS-109285* modelliert als fixer Effekt

Das *MODELL#4* basierte auf dem fixen Effekt entsprechend des Genotyp-Status für den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285*. Dieser SNP war der genomweit signifikanteste SNP der *MLMA#1* und wurde ebenso in anderen Studien als sehr signifikant bezüglich verschiedenen Kalbmerkmalen kartiert und in *MODELL#2* vom SNP-Markerset ausgeschlossen. Verglichen mit *MODELL#3* (Haplotyp Q1 als fixer Effekt) wurden 117 Tiere unterschiedlich klassifiziert. Wie Abbildung 23 für pKV und Abbildung 24 für pTG zeigen, ist das *MODELL#4* weniger vollständig in der Lage den QTL-Effekt auf BTA18 zu korrigieren als *MODELL#3*, obwohl beide Modelle die *LRT*-Werte deutlich unter das Signifikanzniveau ($P < 10^{-5}$) fallen ließen.

Die Korrelationen zwischen *MODELL#1* (2015) und *MODELL#4* betragen 0,32 für pKV und -0,07 für pTG im Bereich des Maximums des Kurvenverlaufes aus *MODELL#1*. Damit ist die Korrelation zwischen diesen Modellen etwas höher als zwischen *MODELL#1* und *MODELL#3* (0,17 für pKV und -0,09 für pTG). Die Korrelation zwischen *MODELL#3* und *MODELL#4*, an gleicher Position, ist mit 0,96 für pKV und 0,98 für pTG sehr stark. Dies zeigt die starke Ähnlichkeit der Effekte der Modelle.

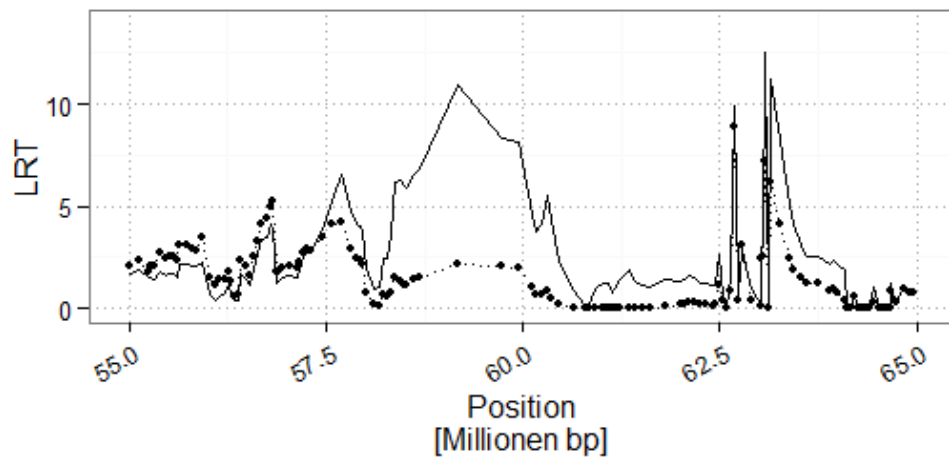


Abbildung 23: Vergleich des paternalen Kalbeverlaufs für *MODEL#3* (gestrichelt mit Rauten) mit *MODEL#4* (durchgehende Linie).

Gezeigt wird auf BTA18 das *MODEL#3* (gestrichelt mit Rauten) und *MODEL#4* (durchgehende Linie) im Ausschnitt von 55 bis 65 Millionen bp.

Ähnliches kann auch für pTG (Abbildung 24) gezeigt werden, wobei *MODEL#4* in der Lage war auf einen *LRT*-Wert von 1,82 bei 59.179.424 bp zu korrigieren, *MODEL#3* aber auf einen *LRT*-Wert von 0,28.

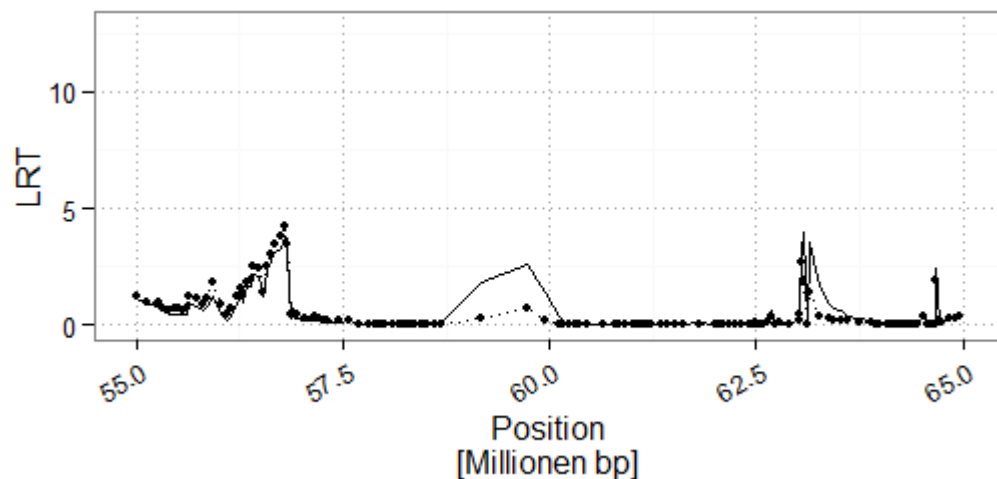


Abbildung 24: Vergleich der paternalen Totgeburt für *MODEL#3* (gestrichelt mit Rauten) mit *MODEL#4* (durchgehende Linie).

Gezeigt wird auf BTA18 das *MODEL#3* (gestrichelt mit Rauten) und *MODEL#4* (durchgehende Linie) im Ausschnitt von 55 bis 65 Millionen bp.

Die Abbildung 25 und Abbildung 26 zeigen den Verlauf der gesamten Kurven für pKV und pTG von *MODEL#1* bis *MODEL#4*. Es ist ersichtlich, dass die Kurven bis etwa 50 Mbp deckungsgleich sind und sich im Bereich zwischen 50 und 60 Mbp unterscheiden.

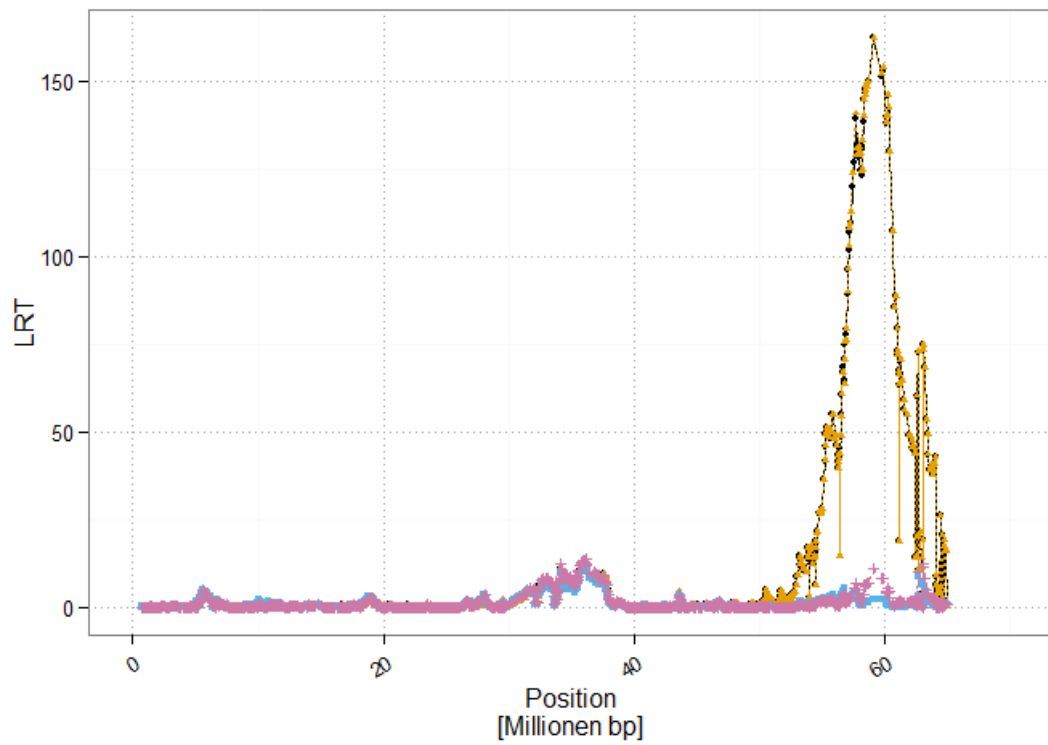


Abbildung 25: Paternaler Kalbeverlauf, Vergleich von *MODELL#1* bis *MODELL#4* auf BTA18.
MODELL#1 in schwarz, *MODELL#2* in maisgelb, *MODELL#3* in hellblau, *MODELL#4* in rosa.

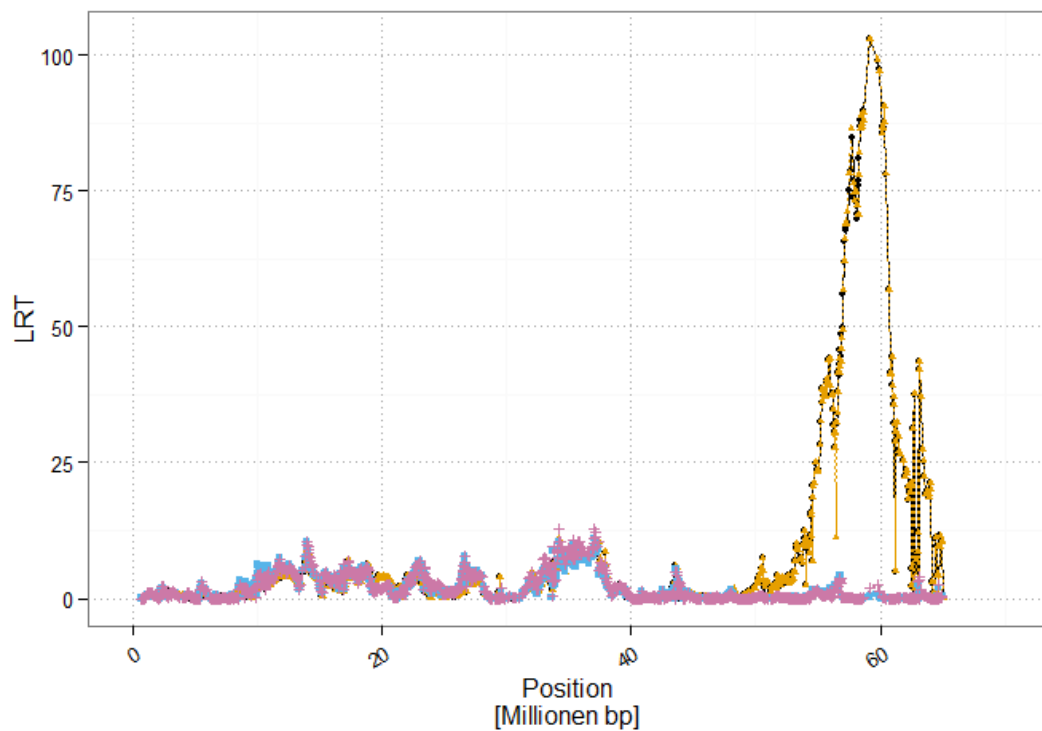


Abbildung 26: Paternale Totgeburt, Vergleich von *MODELL#1* bis *MODELL#4* auf BTA18.
MODELL#1 in schwarz, *MODELL#2* in maisgelb, *MODELL#3* in hellblau, *MODELL#4* in rosa.

4.3.4. *MODELL#5: SNP BTA-29287-no-rs* ausgeschlossen

Für *MODELL#5* wurde der SNP *BTA-29287-no-rs*, analog zu in *MODELL#2*, ausgeschlossen. Der hier ausgeschlossene SNP wurde bei COLE et al. (2011) genomweit als signifikantester SNP für das Merkmal pTG und als viertsignifikantester SNP für pKV gefunden. Weiterhin liegt der SNP direkt am Mittelpunkt (SNP20) des 40-SNP umfassenden Gleitfensters, in dem die Kurven von pTG und pKV in *MODELL#1* ihr Maximum erreichen. Im Gegensatz zu *MODELL#2* änderten sich die *LRT*-Werte für pKV um ~ 70 Einheiten von 160,92 in *MODELL#1* auf 93,26 in *MODELL#5* (Abbildung 27). Für pTG fielen die *LRT*-Werte um ~ 41 Einheiten von 102,08 (*MODELL#1*) auf 60,66 (*MODELL#5*) ab.

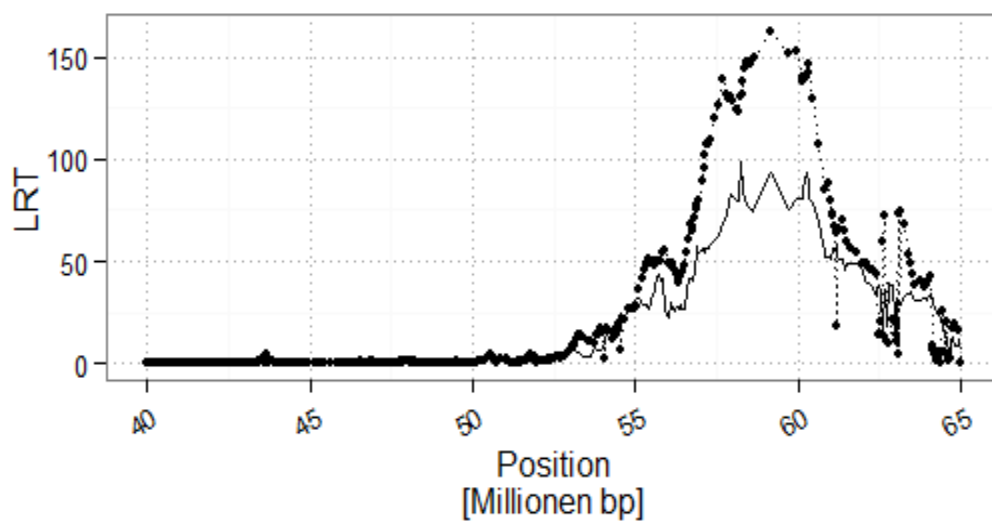


Abbildung 27: Vergleich für den paternalen Kalbeverlauf zwischen *MODELL#1* (gepunktet mit Rauten) und *MODELL#5* (durchgehende Linie)

In *Modell#5* wurde der SNP *BTA-29287-no-rs* von der Berechnung ausgenommen. Gezeigt wird auf BTA18 nur der Ausschnitt von 40 bis 65 Millionen bp.

4.3.5. *MLMA#2: virtueller SNP der auf Haplotyp Q1 basiert*

Der Unterschied zu *MLMA#1* war ein zusätzlicher, selbsterstellter, fiktiver SNP, der auf den Diplotypen Q1/Q1, Q1/q1 und q1/q1 beruht (wie der fixe Effekt in *MODELL#3*). Dieser zusätzliche SNP war nun genomweit am signifikantesten mit einem *P*-Wert von $2,87 \times 10^{-42}$. Die Irrtumswahrscheinlichkeit war rund fünf Dezimalstellen geringer, verglichen mit dem SNP *ARS-BFGL-NGS-109285*, dem zuvor genomweit signifikantesten SNP (*MLMA#1*) mit einem *P*-Wert von $4,07 \times 10^{-37}$.

4.3.6. Sequenzdatenvergleich

Die angegebenen Variationen der SNP in *Siglec12*, *rs461033009* bei 57.591.394 bp und *rs379481803* bei 57.591.440 bp; in *CTU1*, *rs483267294* bei 57.521.276 bp; in *ZNF615*, *rs207571341* bei 58.108.985 bp (PURFIELD, persönliche Mitteilung, 2015) konnten in den zur Sequenzierung ausgewählten Tieren, welche den als ursächlich für den gezeigten Effekt erachteten Haplotyp Q1 tragen, nicht nachvollzogen werden. In *CTU1*, in *Siglec12* und *ZNF615* entsprach die Verteilung nicht den Ergebnissen von PURFIELD (persönliche Mitteilung, 2015). Denn sowohl ein als homozygot für den Haplotyp Q1 (Tier 6), als auch ein für Q1 heterozygoten Tier (Tier 5) waren für die SNP heterozygot und entsprachen somit nicht der angenommenen Verteilung in *CTU1* und *Siglec12*. Bei *ZNF615* war ebenfalls Tier 4 heterozygot, wobei jedoch immer noch das homozygote Tier 6 gegen die Verteilung sprach. Die folgenden drei Abbildungen zeigen, dass alle Tiere in ihrer Verteilung des Haplotyp Q1 nicht der erwarteten Verteilung entsprechen, wenn sie der gleichen Variation unterliegen würden. Die fehlende Übereinstimmung mit PURFIELD et al. (2015) war bereits aus der Definition der Größe der Haplotypen-Region (Haplotyp Q1) durch die Daten des 50K-Chips zu erwarten. Die Region wurde durch die Präzisierung mittels HD-Chip Haplotypen weiter eingegrenzt auf einen Bereich (58.280.048 - 58.819.413 bp), der keine der Variationen von PURFIELD et al. (2015) beinhaltet (siehe Abbildung 13).

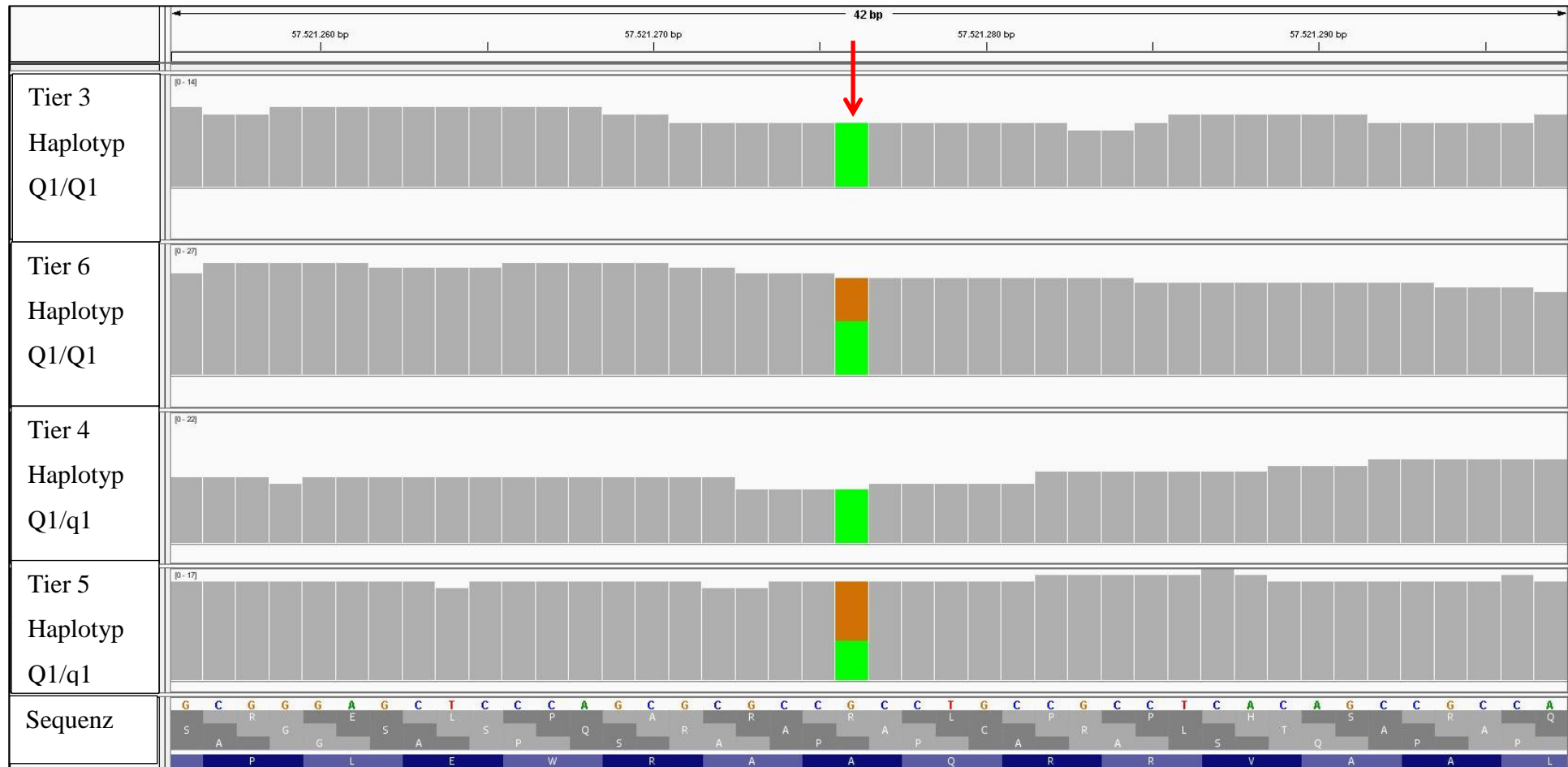


Abbildung 28: Der SNP rs483267294 (roter Pfeil) bei 57.521.276 bp in CTU1 für die vier sequenzierten Tiere.

Das Tier 3 zeigte für den SNP zu 100 % die Purinbase Adenin (A). Das Tier 6 hat eine Verteilung von 55 % für die Base „A“ und 45 % für die Purinbase Guanin (G), das Tier 4 wieder 100 % auf Base A und das Tier 5 40 % für Base A und 60 % für G. Die Benennung der Tiere entspricht Abbildung 13.

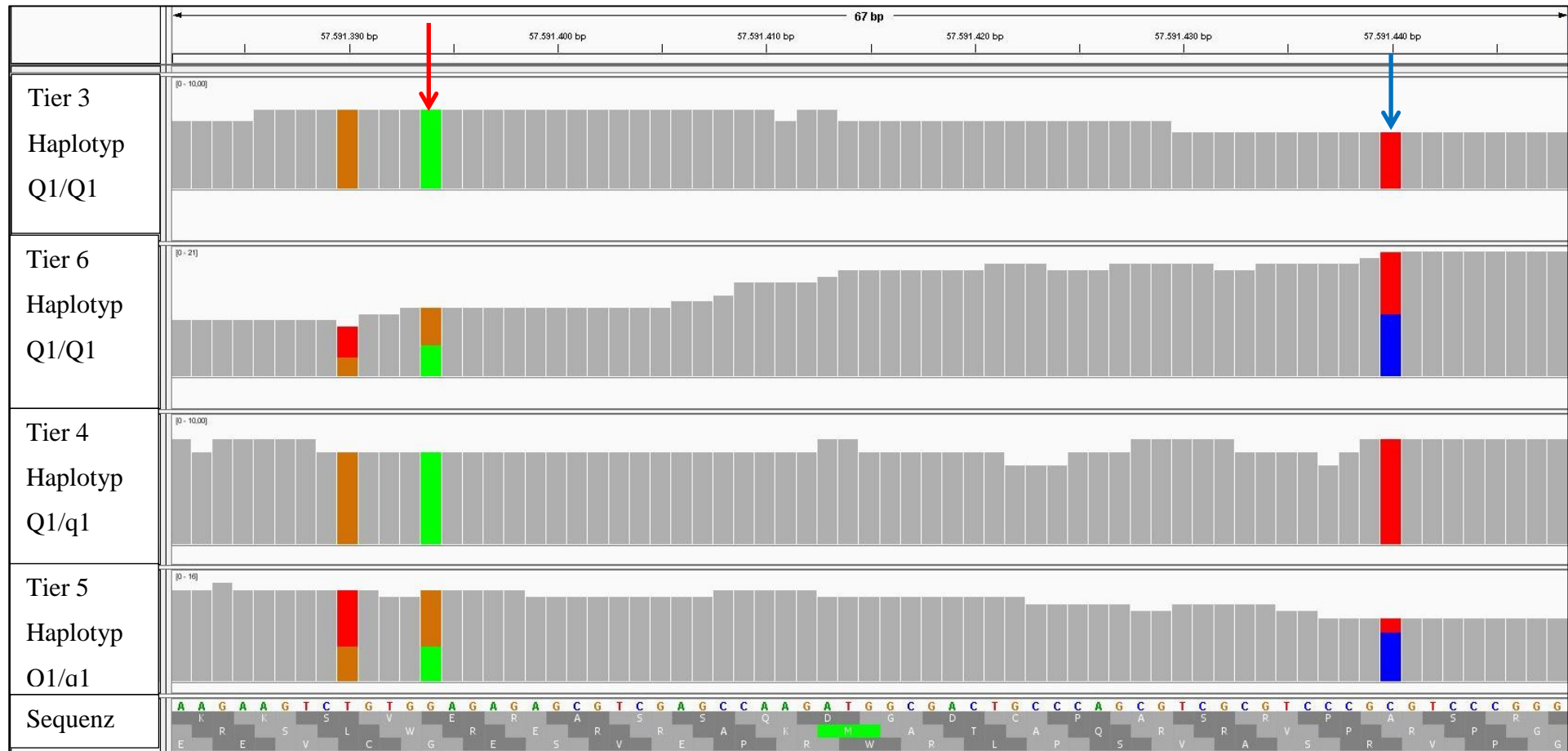


Abbildung 29: Die SNP *rs379481803* (roter Pfeil) bei 57.591.394 bp und *rs461033009* (blauer Pfeil) bei 57.591.440 bp in *Siglec12* für die vier sequenzierten Tiere.

Für den ersten SNP (roter Pfeil) zeigt das Tier 3 zu 100 % die Purinbase Adenin (A), das Tier 6 zu 45 % die Base A und 55 % die Purinbase G. Das Tier 4 zeigt zu 100 % A und das Tier 5 zu 38 % A und zu 62 % die Base G. Für den zweiten SNP (blauer Pfeil) zeigt das Tier 3 zu 100 % die Pyrimidinbase Thymin (T), das Tier 6 zu jeweils 50 % die Pyrimidinbasen Cytosin (C) und T. Das Tier 4 zeigt zu 100 % die Base T und das Tier 5 zu 22 % T und zu 78 % die Base C. Die Benennung der Tiere entspricht Abbildung 13.

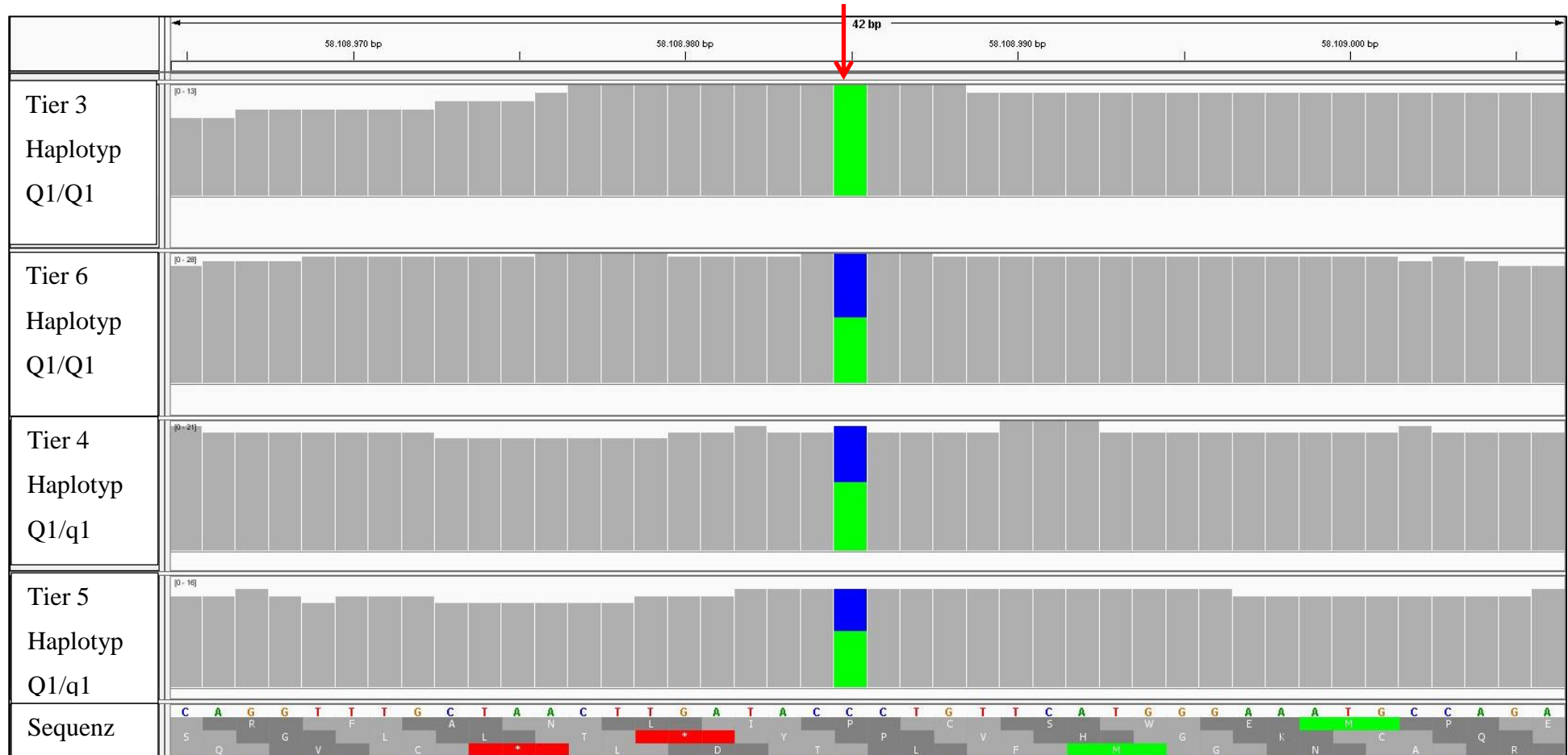


Abbildung 30: Der SNP *rs207571341* (roter Pfeil) bei 58.108.985 bp in ZNF615 für die vier sequenzierten Tiere.

Das Tier 3 zeigt zu 100 % die Purinbase Adenin (A), das Tier 6 zu 50 % die Base A und zu 50 % die Pyrimidinbase Cytosin (C). Das Tier 4 zeigt zu 55 % die Base A und zu 45 % die Base C und das unterste Tier 5 zeigt zu 57 % die Base A und zu 43 % die Base C. Die Benennung der Tiere entspricht Abbildung 13.

V. DISKUSSION

Diskutiert werden anfangs die genomweiten Ergebnisse in Bezug auf die Merkmale der QTL aus der Literatur, die als indirekt übereinstimmend erachtet wurden, sowie mögliche Kandidatengene bisher in der Literatur nicht beschriebener QTL. Im Anschluss wird die *cLDLA*-Methode zur QTL-Kartierung im Vergleich zur *MLMA* diskutiert, wobei die Vorteile der *cLDLA* erörtert werden.

In einem weiteren Kapitel werden die Ergebnisse auf BTA18 und die weiterführenden Modelle, mit denen die Ergebnisse abgesichert wurden, diskutiert. Ebenfalls werden die Korrelationen zwischen den Merkmalen im Zusammenhang mit der Literatur, den Erwartungen und dem Ergebnis einer Studie mit ähnlichem Inhalt behandelt.

1. Genomweit

1.1. Diskussion der QTL: Zusammenhang der Merkmale

Neben den QTL, die sich mittels Literaturrecherche ‚direkt‘ durch QTL gleicher Merkmale bestätigten, wurden auch die QTL als Übereinstimmungen angesehen, die in anderen Studien für Merkmale kartiert wurden, die zwar nicht mit den Merkmalen dieser Studie identisch sind, für die jedoch ein logischer oder in der Literatur bereits bekannter Zusammenhang besteht. Diese ‚indirekt‘ bestätigten QTL sind in Tabelle 7 aufgeführt und die entsprechenden Zusammenhänge zwischen den einzelnen Merkmalen werden im Folgenden kurz dargestellt.

Tabelle 7: Übersicht der kartierten QTL (mit Merkmal und Position), für welche in der Literatur QTL (Position von Start bis Ende) gefunden wurden, die ‚indirekt‘ mit den kartierten QTL verknüpft sind.

Die kartierten QTL sind mit Merkmal und Position angegeben und für die Merkmale Güstzeit (DO), Kalbeverlauf paternal (pKV) und maternal (mKV), paternale Totgeburt (pTG) sowie Verzögerungszeit der Kuh (VZK) und Non-Return-Rate (NRR) wurden überschneidende Merkmale mit der Literatur gefunden.

QTL der <i>cLDLA</i>	Start (bp)	Ende (bp)	Merkmal	Autor
QTL5.2 (pKV & pTG, 55.978.176 - 63.580.096 bp) QTL5.3 (pKV, 63.708.608 - 68.424.352 bp)	53.296.546	62.138.446	Zwillingsgeburt	CRUICKSHANK et al. (2004)
	62.125.530	71.561.898	Zwillingsgeburt	KIM et al. (2009)
	62.125.683	62.138.446	Zwillingsgeburt	MEUWISSEN et al. (2002)
	66.532.877	71.561.898	Zwillingsgeburt	LIEN et al. (2000)
	66.532.877	97.454.531	Statur: Körpergröße	SCHROOTEN et al. (2000)
	66.532.877	97.454.531	Geburtsgewicht	SCHROOTEN et al. (2000)
QTL18.7 (pKV & pTG, 62.624.960 - 64.521.568 bp)	62.106.154	65.406.767	mTG	KÜHN et al. (2003)
	63.144.054	65.406.767	paternale Größe des Kalbs	THOMASEN et al. (2008)
QTL19.1 (pKV, 31.072.674 - 33.523.396 bp)	25.837.047	41.372.598	paternale Größe des Kalbs, Rind und Kühe	SAHANA et al. (2011)
	25.837.047	41.372.598	pKV	SAHANA et al. (2011)
	25.837.047	41.372.598	mKV Rind	SAHANA et al. (2011)
	25.837.047	41.372.598	Kalbeindex	SAHANA et al. (2011)
QTL25.2 (mKV, 19.446.734 - 27.005.838 bp)	16.113.126	22.890.173	paternale Größe des Kalbs, Kühe	SAHANA et al. (2011)
	16.113.126	22.890.173	maternale Größe des Kalbs, Rind	SAHANA et al. (2011)
	16.113.126	22.890.173	Kalbeindex	SAHANA et al. (2011)

Die negative Beeinflussung des Geburtsverlaufs (QTL5.2 & 5.3) durch eine Zwillingsgeburt ist allgemein bekannt und manifestiert sich in einer höheren Wahrscheinlichkeit für eine Schweregeburt (RUTLEDGE, 1975, HOSSEIN-ZADEH et al., 2008). Es werden jedoch sämtliche Zwillingsgeburten von der Deutschen Zuchtwertschätzung des VIT ausgeschlossen und nicht berücksichtigt (SEGELKE, 4.9.2015, persönliche Mitteilung). So ist zwar der Effekt der Zwillingsgeburt auf Kalbeverlauf und auch Totgeburt naheliegend, jedoch werden entsprechende Beobachtungen aus der Zuchtwertschätzung auf Kalbemerkmale entfernt und dem entsprechend sollten die Effekte nicht kartierbar sein. Auch bei QTL 5.3 wurde der direkte Geburtsverlauf (Schweregeburtenrate) mit dem Einfluss der Körpergröße und der Statur des Muttertieres sowie dem Geburtsgewicht des Kalbs eindeutig in Zusammenhang gebracht (MENISSIER & FOULLEY, 1979, PHILIPSSON et

al., 1979, MEIJERING, 1984, JOHANSON & BERGER, 2003, MEE, 2008). Die Beziehung zwischen Schweregeburt und der Größe des Kalbs ist in der Literatur mit einer sehr starken Korrelation (0,9) beschrieben (PHILIPSSON et al., 1979).

Der Zusammenhang zwischen maternal beeinflusster Größe des Kalbs beim Rind und dem in der *cLDLA* assoziierten mKV (QTL25.2) ist ebenfalls gegeben. Der kartierte QTL bezüglich mKV bezieht sich auf Erstkalbungen bei Rindern. Das erste HF Kalb wird im Durchschnitt bei Schwarzbunten mit 27,4 Monaten bzw. bei Rotbunten mit 28,7 Monaten geboren (ADR, 2015). Das Wachstum der Kühe endet aber erst etwa mit der dritten Laktation (RÖMER, 2011). Zum Zeitpunkt der ersten Geburt sind die Kühe also noch nicht ausgewachsen und ihr Becken ist noch relativ eng. Daher ist eine erschwerte Geburt des Kalbs im Vergleich zu gleich großen Kälbern in den folgenden Geburten zu erwarten (JOHANSON & BERGER, 2003). Wie wichtig die Größe des Muttertieres und somit auch die Größe des Beckens ist, verdeutlichen die Zahlen von JOHANSON und BERGER (2003): eine Vergrößerung von 1 dm^2 des Beckenquerschnitts des Muttertieres führt zu einer Abnahme der Schweregeburtenrate um 11 %. Aus diesem Grund werden besonders für Färsen Bullen bevorzugt, die schlanke und dadurch leichtkalbige Kälber vererben, die auch durch die noch nicht ausgewachsenen, engen Becken relativ gut geboren werden können.

Ein Zusammenhang zwischen dem Merkmal mKV (QTL25.2) und dem in der Literatur gefundenen QTL für maternale Größe des Kalbs (Rinder) wurde gefunden. Das Kalb wird nicht nur durch die Genetik des Vaters beeinflusst (paternal beeinflusste Größe des Kalbes bei Kühen), sondern auch durch Regulationsmechanismen des Muttertieres (vererbt von ihrem Vater). Diese Regulationsmechanismen der Mutter (QTL für maternal beeinflusste Größe des Kalbs bei Rindern) sollten eigentlich einen physiologischen Geburtsablauf ermöglichen, d. h. der Fetus sollte nicht zu groß für einen selbstständigen, physiologischen Geburtsablauf sein. Das fetale Wachstum wird durch folgende Faktoren beeinflusst: maternale Faktoren, wie das Bereitstellen von Ressourcen (Nährstoffversorgung); fetale Faktoren, die das fetale Wachstum bestimmen; feto-maternale Interaktions- und Kommunikationsmechanismen (MURPHY et al., 2006). Offenbar kommt bei der maternalen Beeinflussung des fetalen Wachstums eine Art von Dysfunktion im Bereich der Feto-maternalen Wechselwirkungen vor, denn eigentlich sollte ein zu großes Wachstum verhindert werden. Auch WAURICH (2013) stellt fest, dass

„moderat bis hochpositive Korrelationen zwischen Geburtsgewicht und Kalbeverlauf [...] beschrieben“ sind. Er schlussfolgert und hebt hervor, dies sei „bemerkenswert, da demzufolge günstige mütterliche Eigenschaften für das pränatale Wachstum dazu führen, dass das Tier bei der Kalbung Probleme bekommt“ (WAURICH, 2013).

Auch der Zusammenhang zwischen Kalbeindex und Kalbeverlauf (QTL19.1) ist offensichtlich. Denn der Kalbeindex (SAHANA et al., 2011) fasst definitionsgemäß die drei maternalen Merkmale, Größe des Kalbs und Totgeburt sowie den Kalbeverlauf selbst, zusammen. Somit stellt ein QTL für den Kalbeindex eine ‚Mischform‘ aus indirekter und direkter Bestätigung für einen QTL für Kalbeverlauf dar.

Die Verknüpfung von paternalen Merkmalen (QTL18.7, pKV & pTG) mit dem ‚indirekten‘ Merkmal mTG ist schwer zu erklären. Auf den Zusammenhang und übereinstimmende Korrelationen zwischen maternalen und paternalen Merkmalen wird auch im folgenden Kapitel 2.3 der Diskussion eingegangen. Doch wurden auch in der *cLDLA* (vgl. QTL18.4: pKV, pTG und QTL18.6: mKV) am gleichen Ort Maxima für maternale und paternale Merkmale assoziiert.

1.2. Mögliche Kandidatengene für kartierte QTL

Das CI eines jeden QTL wurde überprüft, ob es Gene enthält, die möglicherweise mit den kartierten QTL verknüpft werden können und somit den QTL erklären.

Aufgrund der bisher bekannten Funktionen konnte Relaxin 3 (RLN3) als mögliches Kandidatengen mit den Merkmalen pKV und pTG (QTL 7.1) verknüpft werden. RLN3 fungiert als hypothalamisches Signal, um Nahrungsaufnahme, Schilddrüsenfunktion und reproduktive Funktionen zu koordinieren (MCGOWAN et al., 2009). Der Mechanismus könnte durch das Kalb beeinflusst werden (getriggert durch Trächtigkeit); daher liegt die Vermutung nahe, dass der Kalbeverlauf durch die Nahrungsaufnahme beeinflusst wird. Wird RLN3 im Zeitraum direkt vor der Abkalbung (Transitphase) exprimiert, so senkt es die Futteraufnahme unter den regulären Level ab. Dies stellt für die Kuh in zweierlei Hinsicht ein Problem dar: Das Kalb hat seinen höchsten Energiekonsum (aufgrund der Größe) direkt vor der Kalbung, sodass die Kuh eigentlich mehr Futter aufnehmen müsste, aber allein die Größe des Kalbs führt durch Raumzunahme zu einem Druck auf Pansen und Därme, was die Futteraufnahme ohnehin schon reduziert. Wie INGVARTSEN et

al. (1992) für eine Gruppe Rinder berichtet, kommt es bereits ab Woche 26 ante partum zu einer regulären Depression der Futteraufnahme von 1,5 % je Woche und die Futteraufnahme wird von 14 auf 9 kg reduziert (etwa ein Drittel). Diese Daten stimmen mit den Berichten von GRUMMER (1995) überein, welcher über einen Rückgang der Futteraufnahme von 30 bis 35 % berichtet. Durch RLN3 steigt die Gefahr eines Energiedefizits zusätzlich, verursacht durch zu geringe Energiezufuhr in einer Phase hohen Energieverbrauchs. Während dieses katabolischen Prozesses könnte es zur Akkumulation von Ketonkörpern in Blut und Leber kommen. Diese Ketonkörper führen dann bis zum Stadium der klinisch manifesten Ketose (DIRKSEN, 2006). Für die an einer Ketose leidenden Tiere sind Kalbprobleme durch schlechten Allgemeinzustand eine logische Konsequenz.

Mit dem Merkmal NR56-Rind (QTL 11.1) konnten zwei mögliche Kandidatengene in Zusammenhang gebracht werden: Das Gen für den Rezeptor des luteinisierenden Hormons (LH), an dem gleichzeitig auch Choriogonadotropin bindet (LHCGR: luteinisierendes Hormon und Choriogonadotropin Rezeptor) und das Gen für den Rezeptor des Follikel-stimulierenden Hormons (FSHR). Der LHCGR hat seine Position im Genom bei 30.823.435 bis 30.888.003 bp und der FSHR bei 31.110.744 bis 31.305.197 bp. Beide sind also sehr nahe beieinander gelegen. Das Follikel-stimulierende Hormon (FSH) induziert die Follikelreifung am Ovar und führt zum Wachstum mehrerer Follikel. Ein Follikel übernimmt dann die Rolle des dominanten Follikels und erreicht später im Verlauf das Potential befruchtungsfähig zu werden (SARMENTO, 2004). Das Luteinisierende Hormon (LH) induziert die Entwicklung des luteolytischen Follikels zum Gelbkörper. Durch vom Embryo sezerniertes Interferon- τ wird die Freisetzung von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ aufrecht erhalten und eine Luteolyse verhindert (DE KRUIF et al., 2013). Wenn Rinder mit LHCGR oder FSHR Probleme haben, so kann die Follikelreifungskaskade nicht physiologisch korrekt ablaufen. Die Tiere werden entweder keinen dominanten Follikel ausbilden können und sind somit nicht konzeptionsfähig, oder, wenn das LH nicht binden kann, wird kein Gelbkörper ausgebildet, um die Trächtigkeit aufrecht zu erhalten.

Als mögliches Kandidatengen für VZR (QTL 14.1) kommt das Zinkfinger Protein Multityp 2 (ZFPM2) Gen in Frage. Für dieses Gen kreierten CRISPINO et al. (2001) und SVENSSON et al. (2000) GATA4-defiziente Mäuse, um die Funktion

des GATA bindenden Proteins 4 (GATA4) und ZFPM2 zu prüfen. TEVOSIAN et al. (2000) und SVENSSON et al. (2000) kreierten ebenfalls Mäuse, die ein Defizit für ZFPM2 aufwiesen. ZFPM2 ist ein Zinkfinger Protein, alternativ auch als ‚Freund von GATA‘ bezeichnet, und wird mit GATA4 coexprimiert. Diese GATA4- und ZFPM2-defizienten, als auch die nur für ZFPM2 defizitären Mäuseembryonen starben alle aufgrund von Fehlern bei der Herzbildung ab, zwischen Tag 8,5 und 13. Aufgrund dieser Studien kann angenommen werden, dass Kühe, die Kälber mit einem Defekt dieses Gens tragen, ebenfalls verkalben. Wenn der Embryontod bei Rindern eintritt, wurde unter Umständen die Trächtigkeit noch nicht erkannt, oder wird nach erneutem Auftreten der Brunst (nach Verkalben) als vermeintlich falsche Diagnose wieder gestrichen und das Tier erneut besamt. Resultierend hieraus könnte die VZR-Zeitspanne vergrößert sein.

1.3. Diskussion der Methoden: *cLDLA* und *MLMA* und Übereinstimmungen untereinander

Neben den QTL konnten auch Übereinstimmungen mit einzelnen SNP anderer Studien gefunden werden, die in der Regel jedoch – wenn überhaupt – eher gering ausfielen (COLE et al., 2009, HÖGLUND et al., 2009b, HÖGLUND et al., 2009a, SEIDENSPINNER et al., 2009, BRAND et al., 2010, SAHANA et al., 2010, SAHANA et al., 2011, HÖGLUND et al., 2012, MINOZZI et al., 2013, COLE et al., 2014b, HÖGLUND et al., 2014, PURFIELD et al., 2014). So kommen die Übereinstimmungen zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und denen anderer Studien nie über 50 %. Hierfür gibt es mehrere Gründe, die verwendete Population und Kartierungstechnik miteinschließen (KARLSSON et al., 2007, VISSCHER, 2008). So ist bekannt, dass sich bei identischer Methode der Kartierung die Ergebnisse stark unterscheiden, wenn unterschiedliche Populationen verwendet wurden (HÖGLUND et al., 2014). Somit kann der Schluss gezogen werden, dass es unter anderem zu Ergebnisübereinstimmungen kommt, weil die Populationen Ähnlichkeiten aufweisen. Allen HF-Populationen gemein ist die enorme Steigerung der Milchleistung. Erreicht wurde dies vorrangig durch Einkreuzen der wesentlich milchstärkeren amerikanischen HF Linien (SAMBRAUS, 2011, BRADE & BRADE, 2013).

Wie der Vergleich zwischen den zwei unterschiedlichen Methoden, *cLDLA* und *MLMA*, an dem identischen Datensatz zeigen konnte, hat auch die verwendete Kartierungstechnik einen sehr starken Einfluss auf die Ergebnisse. Denn obwohl

die Ausgangsdaten identisch sind, werden mit beiden Techniken (*cLDLA* vs. *MLMA*) unterschiedliche Ergebnisse erzielt, die sich nur zu rund einem Fünftel decken. In den verschiedenen Publikationen wurden neben unterschiedlichen Kartierungstechniken auch unterschiedliche *P*-Werte, d. h. Irrtumswahrscheinlichkeit, verwendet. Somit kann kein allgemeingültiger Schluss über die reale Bedeutung der SNP gezogen werden. Häufig gesetzte Signifikanzschwellen variieren zwischen signifikant ($P < 0,05$) und höchst signifikant ($P < 0,001$). Je niedriger die Irrtumswahrscheinlichkeit gesetzt worden ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die SNP ursächlich sind, da mit seltenerem Irrtum die Nullhypothese verworfen wird. Allerdings erhöht sich gleichzeitig auch die Zahl falsch negativer Ergebnisse, was unter Umständen die Anzahl an Überschneidungen mit anderen Studien beeinflussen kann.

Einen Hinweis, dass die *cLDLA* (durch Haplotypenrekonstruktion) entsprechend sensibler ist, als die GWAS-Studien, gibt uns die *MLMA*#2. Diese zeigte, dass der in *MODELL*#1 identifizierte Haplotyp Q1, modelliert als fiktiver SNP, eine deutlich höhere Signifikanz aufweist, als der zuvor in der *MLMA* kartierte genomweit signifikanteste SNP. Die höhere Robustheit der *cLDLA*, d. h. sie ist weniger stör anfällig, da sie von einzelnen SNP unabhängiger ist. Denn obwohl ein SNP ausgeschlossen wurde in *MODELL*#2, ist das Ergebnis gleich. Und auch der in *MODELL*#5 ausgeschlossene einzelne SNP, dessen Fehlen die *LRT*-Werte deutlich reduziert, führt immer noch zu sehr deutlich signifikanten Ergebnissen.

Üblicherweise werden jedoch für GWAS deregressierte Zuchtwerte verwendet (z. B. COLE et al., 2009, SEIDENSPINNER et al., 2009, COLE et al., 2011, COLE et al., 2014b, PURFIELD et al., 2014, PURFIELD et al., 2015). Um einen möglichen Benefit der Deregression bezüglich *cLDLA* und *MLMA* zu überprüfen wurden auch in dieser Studie *cLDLA* und *MLMA* mit deregressierten Zuchtwerten beispielhaft für BTA18 durchgeführt.

Wie die ausgeschlossenen Werte der deregressierten Zuchtwerte (Tabelle 8) zeigen, ist die Deregression nach GARRICK et al. (2009) nicht für alle Kombinationen aus Zuchtwerten und Sicherheiten gleich gut geeignet. Mathematisch bedingt kam es z. B. zu deregressierten Zuchtwerten von -263,6 bis 800,7. Eine Änderung der Sicherheit um nur einen Prozentpunkt hat bereits einen sehr starken Effekt auf das Ergebnis der Deregression bei den Tieren aus Tabelle 8. Da diese unsicheren Tiere (Tabelle 8) ausgeschlossen wurden, kam es zu einem Verlust an Informationen. Bei einer Deregression nach GARRICK et al. (2009) ist es wichtig, die dere-

gressierten Zuchtwerte auf Ausreißer zu überprüfen. Es stellt sich auch die Frage, wo und wie ein sinnvoller Grenzwert für die Erkennung der Ausreißer gesetzt werden soll. Durch den Ausschluss der Ausreißer wird der Datensatz kleiner (Informationsverlust) und zeigt eine geringere Streuung als zuvor auf (siehe Abbildung 7). Somit ist es zumindest fraglich, inwiefern eine Deregression, die zum Ausschluss der unsicheren Tiere führt, zur Verbesserung der Gesamtergebnisse beitragen kann und zwar ohne das Risiko, dass zu viel oder zu wenig ausgeschlossen wird. In der verwendeten *cLDLA* besteht, wie der Vergleich der Ergebnisse zwischen regressierten Werten von *MODELL#1* und dem Modell mit deregressierten Zuchtwerten zeigt, kein signifikanter Unterschied; die Korrelationen zwischen den regressierten und deregressierten Daten sind sehr stark (pKV: 0,9913; pTG 0,9848). Daraus lässt sich schließen, dass eine Deregression der Zuchtwerte für den hier vorliegenden methodischen Ansatz und Datensatz zu keiner signifikanten Verbesserung der Ergebnisse führt. Daher wurde davon abgesehen für die übrigen Autosome eine erneute Berechnung durchzuführen.

Außerdem wurde eine *MLMA* mit den deregressierten Zuchtwerten für Kalbmerkmale ausgeführt. Bezüglich des genomweit signifikantesten SNP kann festgestellt werden, dass dessen Irrtumswahrscheinlichkeit deutlich größer geworden ist, die Signifikanz somit abnahm. Jedoch blieb der SNP genomweit am signifikantesten. Die Korrelation zwischen den negativ logarithmierten *P*-Werten war außerdem sehr stark (pKV: 0,98, pTG: 0,97) und somit konnte zumindest für den vorliegenden Datensatz kein offensichtlicher positiver Effekt der Deregression gegenüber den regressierten Zuchtwerten festgestellt werden.

2. BTA18

Die *MODELLE#2* bis *-#5* und die *MLMA#2* wurden zur Absicherung und Bestätigung der Ergebnisse sowie der Methode durchgeführt. In *MODELL#2* wurde der genomweit signifikanteste SNP der *MLMA*, *ARS-BFGL-NGS-109285*, ausgeschlossen. *MODELL#3* enthält einen fixen Effekt basierend auf dem Haplotypen Q1 und *MODELL#4* einen fixen Effekt entsprechend des Genotyps des genomweit signifikantesten SNP der *MLMA* (siehe *MODELL#2*). Bei *MODELL#5* wurde, analog zu *MODELL#2*, der SNP *BTA-29287-no-rs* ausgeschlossen. Dieser war bei COLE et al. (2011) der genomweit signifikanteste SNP für pTG und der viertsignifikanteste für pKV. Außerdem lag er in der Mitte des genomweit signifikantesten 40-SNP-Gleitfensters der *cLDLA*. *MLMA#2* enthielt zusätzlich einen selbsterstellten,

fiktiven SNP hinsichtlich des Diplotypstatus des Haplotyps Q1, analog zu *MODEL#3*.

2.1. *MODEL#2, -#3, -#4, MLMA#2 und Vergleich der Sequenzdaten*

Sowohl die Literaturrecherche, als auch die eigens durchgeführte *MLMA* zeigen übereinstimmend das der SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* der als am stärksten mit Kalbmerkmalen bei HF assoziierten SNP ist. Mit dem Hintergrundwissen, dass dieser SNP sowohl an der Stelle des LRT_{max} in die Schätzung einbezogen wurde und genomweit signifikantester SNP in der *MLMA* für pKV ist, wurde *MODEL#2* geschätzt. Da sich *MODEL#2* jedoch nicht von *MODEL#1* unterschied, lag der Schluss nahe, dass für die *cLDLA* der Effekt dieses einzelnen SNP keinen großen Einfluss hat und die Methode sehr robust gegenüber dem Vorhandensein einzelner SNP ist. In *MODEL#3* wurde der Haplotyp Q1 als fixer Effekt in das Schätzmodell mit einbezogen und somit die Ausprägung des QTL 18.4 unterdrückt. Da jedoch auch weitere in *MODEL#1* signifikante lokale Maxima und somit auch resultierende QTL verschwanden, kann von einem ‚carry-over‘ Effekt (MEUWISSEN & GODDARD, 2004, OLSEN et al., 2004) des Haplotyps Q1 auf die anderen vermeintlichen QTL ausgegangen werden. Um den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* noch weiter zu testen, wurde auch ein fixer Effekt diesbezüglich in ein Schätzmodell integriert (*MODEL#4*). Dieser fixe Effekt unterscheidet sich jedoch nur bei 117 Tieren vom fixen Effekt bezüglich Haplotyp Q1 bzw. *MODEL#3*. Somit war zu erwarten, dass der Verlauf der Kurve für pKV ähnlich stark beeinflusst wird. Jedoch zeigte der fixe Effekt mit Haplotyp Q1 noch deutlichere Auswirkungen als dies der fixe Effekt für den einzelnen SNP tat. Dies lässt annehmen, dass der Haplotyp Q1 mit dem darunter liegenden QTL für das Merkmal pKV stärker assoziiert ist als der SNP (*ARS-BFGL-NGS-109285*). Diese Annahme wird auch durch die Ergebnisse der *MLMA#2* bestätigt, da hier der fiktive SNP basierend auf Q1 signifikantere Werte erreichte als der ursprünglich bestassoziierte SNP *ARS-BFGL-NGS-109285*. Es ist daher im Allgemeinen davon auszugehen, dass eine Haplotyp-basierte *cLDLA* einer SNP-basierten GWAS überlegen ist. In speziellen Fällen, z. B. wenn der kausale SNP selbst oder ein mit ihm vollständig gekoppelter Marker Teil des Markersatz ist, ist eine Überlegenheit der *cLDLA* jedoch nicht zu erwarten.

Der Vergleich der Sequenzdaten mit den vier Varianten, die PURFIELD et al. (2015) im Bereich um *ARS-BFGL-NGS-109285* fanden, konnten nicht in entspre-

chender Verteilung in den Genotypen der vier Tiere mit Haplotyp Q1 gefunden werden. Somit können diese nicht im Zusammenhang mit den Effekten stehen, für die der Haplotyp Q1 angenommen wird und können somit nicht als ursächlich für den Haplotyp Q1 angesehen werden.

2.2. *MODELL#5*

Das Literaturstudium bezüglich der Ergebnisse der QTL auf BTA18 machte ebenso auf einen weiteren SNP aufmerksam, der noch näher an dem LRT_{max} von pKV und pTG, bzw. QTL18.4 liegt. COLE et al. (2011) fanden in ihrer GWAS den SNP *BTA-29287-no-rs* bei 58.696.066 bp für am signifikantesten mit pTG assoziiert und für mKV am zweit- sowie für pKV am viert-signifikantesten. Dieser SNP lag dazu noch im Mittelpunkt des Gleitfensters des LRT_{max} in dem der Haplotyp Q1 identifiziert wurde. Da bis auf vier Tiere alle Tiere im gesamten Datensatz für diesen SNP die übereinstimmende Verteilung mit Haplotyp Q1 zeigten, war zu erwarten, dass ein fixer Effekt definiert nach Haplotyp Q1 (vgl. *MODELL#3*) oder *BTA-29287-no-rs* kaum verschiedene Resultate ergeben würde. Stattdessen sollte ähnlich wie in *MODELL#2* die Bedeutung dieses SNP für die *cLDL*A-Kartierungsergebnisse überprüft werden. Es wurde wieder ein einzelner SNP ausgeschlossen. Doch in *MODELL#5* zeigte der SNP, diesmal mittig im Haplotyp positioniert, einen deutlicheren Effekt als erwartet. Die Kurvenmaxima wurden stark beeinflusst d. h. im Gegensatz zum SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* hat der SNP *BTA-29287-no-rs* einen starken Effekt. Er ist in der Mitte des Haplotypen positioniert und flankiert eine im 50K-Chip uninformative Region. Der SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* war zwar Teil des 40-SNP Gleitfensters, wurde jedoch nicht als zum Haplotyp Q1 zugehörig identifiziert. Durch Ausschluss von SNP *BTA-29287-no-rs* entstand eine vergrößertes, markerloses Intervall, welches zu einer reduzierten Genauigkeit bei der Schätzung der IBD Wahrscheinlichkeiten inmitten dieser vergrößerten Lücke führt (MEUWISSEN & GODDARD, 2001). Als direkte Folge entsteht eine reduzierte *Likelihood* des Modells (L_P) an dieser und der benachbarten Positionen. Dieses Resultat spricht, kombiniert mit den Ergebnissen der Haplotypenanalyse, für eine deutlich stärkere Assoziation des SNP *BTA-29287-no-rs* mit Kalbmerkmalen, als die des SNP *ARS-BFGL-NGS-109285*. Somit widerspricht dieses Ergebnis der von COLE et al. (2009), COLE et al. (2014a), COLE et al. (2014b) gemachten Annahme, dass die in ihrer Arbeit gefundenen Assoziationen eigentlich auf dem SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* basieren.

2.3. Korrelationen zwischen Phänotypen maternalen und paternalen Ursprungs

In der Regel sind zwischen Merkmalen maternalen und paternalen Ursprungs keine bzw. negative genetische Korrelationen zu erwarten. Dies berichtet auch WAURICH (2013, Seite 45) und führt weiterhin an, dass andernfalls die „Interaktionen allgemein schwierig biologisch zu interpretieren wären.“ Es wurde in der vorliegenden Arbeit jedoch eine starke Locus-Korrelation (0,66) zwischen mKV und pKV festgestellt, was ähnliche Ergebnisse von COLE et al. (2009) bestätigen. Dort wurde eine starke Korrelation (0,81) zwischen mKV und pKV auf Chromosom 18 geschätzt.

Weniger ungewöhnlich ist die sehr starke Locus-Korrelation (0,87) am LRT_{max} (59.179.424 bp), die zwischen den Merkmalen pKV und pTG gefunden wurde. So berichten COLE et al. (2014b) ebenfalls für die von ihnen untersuchte Deutsche Holstein Population eine starke genetische Korrelationen von 0,63 zwischen pKV und pTG und für die amerikanische HF Population, eine mittlere Korrelation von 0,56, jeweils chromosomweit geschätzt für BTA18. Zwar sind die berechneten Locus-Korrelation gemessen an den genomweiten Korrelationen der Daten der Zuchtwerte oder der Daten vom VIT außergewöhnlich hoch, aber auch COLE et al. (2009) kamen zur gleichen Erkenntnis. Die gefundenen Locus-Korrelationen stimmen folglich mit bereits publizierten Ergebnissen überein, sodass die enorme Bedeutung dieser Region auf BTA18 für die Fruchtbarkeit der HF-Population erneut bestätigt werden konnte.

PAUSCH et al. (2011) bezeichnet die Totgeburt als dichotome Manifestation des Kalbeverlaufs, denn die Dystokie ist ein Hauptgrund für die perinatale Mortalität der Kälber. Die Korrelation des pKV mit wachstumsbezogenen Merkmalen und übereinstimmenden QTL deutet darauf hin, dass fetales Wachstum und das resultierende Geburtsgewicht ein bestimmender Faktor für den Geburtsverlauf sind (MEIJERING, 1984, JOHANSON & BERGER, 2003).

COLE et al. (2009) sind überzeugt, dass in der Region um den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* auf BTA18 ein QTL mit signifikanten Effekten auf Größe des Kalbs, Kalbeverlauf, Langlebigkeit und Lebensleistung (economic merit) liegt. Es wurde eine starke positive Korrelation der Merkmale mit pKV aber auch untereinander gefunden und daher vermuten COLE et al. (2009), dass dieser QTL primär zu einem hohen Geburtsgewicht führt und dadurch zu einem größeren Schwere-

burtsrisiko beiträgt, welches wiederum eine reduzierte Fruchtbarkeit und folglich eine reduzierte wirtschaftliche Lebensleistung der Tiere bedingt (MEIJERING, 1984, MEE, 2008).

MEE (2008) fasste in einem Review prädisponierende Faktoren, wie Geburtsgewicht und Disproportion zwischen Fetus und Beckengröße als Risikofaktoren für Schweregeburten zusammen. So zitiert er auch MEIJERING (1984), wonach 50 % der phänotypischen Varianz (bezüglich Schweregeburt) auf das Geburtsgewicht des Kalbs zurückgehen und 5 - 10 % auf die Beckengröße des Muttertieres. Weiterhin wird berichtet, dass ein Anstieg des Geburtsgewichtes um 1 kg zu einem Anstieg der Schweregeburtenrate von 13 % führt (JOHANSON & BERGER, 2003). Dem wirkt entgegen, dass eine Vergrößerung von 1 dm² des Beckenquerschnitts des Muttertieres zu einer Abnahme der Schweregeburtenrate um 11 % führt (JOHANSON & BERGER, 2003). Auch statistisch ist der Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Kalbeverlauf mit einer starken positive Korrelation von 0,9 bereits seit über dreißig Jahren bekannt (PHILIPSSON et al., 1979), wobei das Risiko einer Schweregeburt besonders oberhalb von 42 bis 45 kg erhöht ist (MENISSIER & FOULLEY, 1979). Aber für BTA18 gelten diese Zusammenhänge wohl nicht generell. Offenbar kommt es hier zu anderen Wechselwirkungen und gegenseitigen Beeinflussungen, die sich dann in den Merkmalen widerspiegeln. Eine mögliche Erklärung wäre eine Mutation auf BTA18, welche zu lebensschwachen, nicht sehr vitalen Kälbern führt, die schon während des Geburtsvorgangs Probleme haben und durch ihre geringe Vitalität auch gehäuft sterben können. Die Mutation könnte so zu deutlich vermehrter Dystokie und Totgeburt (pKV und pTG) führen. Wenn diese Kälber zeitlebens weniger vital bleiben, kann es, wenn sie dann selbst ein vitales Kalb gebären, bei der Geburt wiederum vermehrt zu Dystokie (mKV) kommen, da das Muttertier schwach ist und die Geburt nur mäßig vorantreibt. Außerdem wäre durch den ‚schwachen Geburtsvorgang‘ ein Anstieg der totgeborenen Kälbern (mTG) anzunehmen. So wäre die genomweite antagonistische Beziehung von maternalen und paternalen Effekten an einem Locus außer Kraft gesetzt und dadurch zu erklären. Eine solche Mutation wird sowohl maternal als auch paternal vererbt und kann, muss aber nicht, in einem Zusammenhang mit fetalem Wachstum stehen. Nicht jeder relativ zu groß gewachsene Fetus ist zwingend vital und nicht jedes relativ groß gewachsene Rind wird den eigenen Fetus gleichermaßen gut bei der Geburt unterstützen.

Insgesamt lässt sich schlussfolgern, dass derjenige Bulle für die Zucht am geeignetsten wäre, dessen Nachkommen relativ leichte, kleine und sehr vitale Kälber sind, die jedoch ein großes Wachstumspotential beherbergen und später dann zu großen, vitalen Tieren mit einem möglichst großen Beckenquerschnitt heranwachsen.

Um dieses Ziel zu erreichen, ist „die gleichzeitige Berücksichtigung beider Zuchtwerte in der Selektion [...] wichtig, da sie genetisch negativ verbunden sind“. Es müssen „für die Kalbeeigenschaften [...] sowohl der Effekt des Bullen als Vater des Kalbs (paternal) als auch der Effekt als Vater der Kühe (maternale Abkalbeeigenschaften) geschätzt“ werden (DEUTSCHER HOLSTEIN VERBAND, 2014). Somit bestätigt die vorliegende Arbeit die Zielsetzung des Verbandes, welche die Züchter jedoch vermehrt berücksichtigen und umsetzen müssen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund dieser Arbeit ist die in den letzten Jahrzehnten stetig abnehmende Fruchtbarkeit der Rinderrasse Holstein-Friesian (SILVIA, 1998, PRYCE et al., 2004). Dem Titel entsprechend hat es sich diese Studie zum Ziel gesetzt, Genomregionen mit Einfluss auf die Fruchtbarkeit durch einen Kartierungsansatz ausfindig zu machen. Aufgrund ihres Einflusses auf quantitative Merkmale werden solche Regionen auch als Quantitative Trait Loci (QTL) bezeichnet. Bei den in dieser Arbeit untersuchten zehn Fruchtbarkeits- und Kalbmerkmale handelt es sich um die folgenden vom VIT übermittelten Zuchtwerte: Verzögerungszeit für Rinder (**VZR**) und Kühe (**VZK**); der Anteil der nicht erneut brünstigen Tiere 56 Tage nach Besamung bei Rindern (**NR56R**) und Kühen (**NR56K**); Rastzeit (**RZ**); Güstzeit (**DO**); paternaler (direkter) Kalbeverlauf (**pKV**) für Rinder; maternaler (indirekter) Kalbeverlauf (**mKV**) für Rinder; paternale Totgeburt (**pTG**) für Rinder und maternale Totgeburt (**mTG**) für Rinder.

Die für diese Studie verwendeten 2527 HF Bullen wurden auf BOVINE SNP50 BEADCHIPS (Illumina) genotypisiert. Die eigentliche Kartierung der 29 bovinen Autosomen erfolgte anschließend mit einer kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse (*cLDLA*). Hierzu wurde das Genom in 40 SNP umfassende Gleitfenster unterteilt und in jeder Fenstermitte eine Varianzkomponentenanalyse durchgeführt. Basierend auf dem *cLDLA*-Kartierungsansatz wurden insgesamt 90 signifikante lokale Maxima gefunden, die anhand mehrerer Kriterien 50 verschiedenen QTL zugeordnet werden konnten. Einige dieser kartierten Loci bestätigten bereits zuvor publizierte QTL, andere QTL waren neu. Der signifikanteste QTL wurde auf BTA18 in einer Region gefunden, welche bereits durch zahlreiche Autoren als besonders signifikant deklariert wurde. Allerdings befand sich das hier kartierte Maximum (59.179.424 bp) etwa 1,59 Megabasen von der Stelle entfernt, an welcher aufgrund der Ergebnisse früherer Studien aktuell geforscht wird, dem SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* bei 57.589.121 bp. Nach genauerer Analyse des signifikantesten 40-SNP Fensters konnte ein ‚ursächlicher‘ Haplotyp identifiziert werden, der im weiteren Verlauf als Haplotyp Q1 bezeichnet wird. Dieser Haplotyp ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ursächlich für den QTL, welcher für pKV und pTG im Bereich 55.282.968 - 60.119.636 bp kartiert wurde. Um

den Haplotyp Q1 weiter zu verfeinern, wurden 86 Bullen zusätzlich auf BOVINEHD BEADCHIPS (Illumina) mit wesentlich mehr Markern und dadurch höherer Markerichte genotypisiert. So konnte der auf BTA18 identifizierte Haplotyp Q1 schließlich auf einen Bereich von 58.280.048 bis 58.819.413 bp eingegrenzt werden.

In weiterführenden Analysen, unter anderem in zwei genomweiten Assoziationsstudien (GWAS), die keine SNP-Fenster sondern einzelne SNP betrachteten (*MLMA#1* und *MLMA#2*), sowie vier weiteren *cLDLAs* (*MODELL#2* - *MODELL#5*) auf Chromosom 18, konnte gezeigt werden, dass die gewählte Methode (*cLDLA*) als Hauptursache für die oben genannte Positionsabweichung gesehen werden kann. Die Ergebnisse der Modelle zeigten, dass der Einfluss des Haplotyps Q1 in der Lage ist, die Effekte bezüglich der Kalbmerkmale im Bereich von 50 bis 60 Megabasenpaaren weitestgehend auszulöschen und nicht der von vielen Forschern für paternalen Kalbeverlauf kartierte SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* für den Effekt als ursächlich angesehen werden kann.

Trotz reger bisheriger Forschung im Bereich dieses SNP konnten erst jüngst vier mögliche kausale Varianten im Bereich um den SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* identifiziert werden. Da aber in vier sequenzierten HF Bullen mit Haplotyp Q1 keine der Varianten von PURFIELD et al. (2015) entsprechend der Genotypen nachvollzogen werden konnte, können diese nicht als gegenseitige Bestätigung verstanden werden. Unsere Ergebnisse sprechen deutlich für eine weiterhin unbekannte Mutation innerhalb des Haplotyps Q1.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die hier in dieser Arbeit dargelegten Ergebnisse wichtige neue Fakten zum aktuellen Wissensstand beitragen und sich somit für die erfolgreiche Identifizierung kausaler Variante(n) als hilfreich erweisen werden. In der Zwischenzeit steht der für direkten Kalbeverlauf und Totgeburt als ‚schädlich‘ identifizierte Haplotyp Q1 zur Verfügung, so dass unverzüglich begonnen werden kann, indirekt gegen die kausale Variante zu selektieren, um sie langfristig aus der Holstein-Friesian Population zu entfernen.

VII. SUMMARY

The background of this thesis lies in the steadily declining fertility of Holstein-Friesian (HF) cattle over the last decades (SILVIA, 1998, PRYCE et al., 2004). According to the thesis title, the aim of this study is to identify the genomic regions influencing fertility. Due to their quantitative and additive influence, those regions have been named Quantitative Trait Loci (QTL). The analyzed ten fertility and calving traits are based on the following estimated breeding values provided by VIT: Days from first service to conception for heifers (**VZR**) and for cows (**VZK**); non-return rate on day 56 for heifers (**NR56R**) and for cows (**NR56K**); days from calving to first insemination (**RZ**); days open (**DO**); paternal calving ease (**pKV**) for heifers; maternal calving ease (**mKV**) for heifers; paternal stillbirth (**pTG**) for heifers and maternal stillbirth (**mTG**) for heifers.

Genotypes of the 2527 HF bulls used in this study were obtained by BOVINE SNP50 BEADCHIPS (Illumina). Actual data of the 29 bovine autosomes were processed with a combined linkage disequilibrium and linkage analysis (*cLDLA*). A variance component analysis was performed within the midpoint of the 40-SNP sliding windows. Using a *cLDLA*-based QTL mapping approach, we were able to detect 90 significant maxima which lead to 50 significant QTL. Some of those results partly verified previously published QTL, other loci, however, were newly identified. The most significant QTL was found on BTA18 in a QTL-region which had already been mapped for fertility traits before. However, the maximum of this QTL was mapped about 1,59 Mbp apart from the position of the SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* which is the region of interest of several other scientific groups. After accurate analysis of the most significant 40-SNP sliding window, a causal haplotype (labeled as haplotype Q1 in the following) could be detected. Haplotype Q1 was mapped for this QTL for pCE and pSB between positions 55.282.968 and 60.119.636 bp. To narrow the haplotype's range down, 86 bulls were additionally genotyped with BOVINEHD BEADCHIPS (Illumina) which contains more markers, thus leading to a higher resolution. Due to this the range of haplotype Q1 could be narrowed down to an interval between 58.280.048 and 58.819.413 bp.

In further analyzes including two genome-wide association studies (GWAS) and

considering no SNP window but individual SNP (*MLMA#1* and *MLMA#2*), plus four other *cLDLAs* (*MODEL#2* - *MODEL#5*) on chromosome 18, the chosen method (*cLDLA*) could be confirmed as the main cause behind the positional deviation. Results showed that haplotype Q1 was able to let QTL 18.4 and, therefore, the effects observed between 50 and 60 Million bp for calving traits disappear. And not the SNP *ARS-BFGL-NGS-109285* that was found in previous studies for paternal calving ease and considered to be causal for the observed effect.

Even though a lot of research has been done in the chromosomal region around *ARS-BFGL-NGS-109285* within the last years, it was not until recently that four possible causal variants could be found. Because none of the results shown by PURFIELD et al. (2015) on BTA18 could be reproduced in the four sequenced HF bulls with haplotype Q1, we can safely exclude the possibility that these causal variants have an effect for the haplotype Q1.

Summing up, the results presented in this thesis add important new facts to the current state of knowledge and thus will help to successfully identify the causal variant(s) of the observed effect. Until then, haplotype Q1, which has been identified as being harmful for direct calving ease and stillbirth, can be used for indirect selection against the causal variant in the Holstein-Friesian population starting immediately.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Adamec V, Cassell B, Smith E, Pearson R. Effects of inbreeding in the dam on dystocia and stillbirths in US Holsteins. *Journal of Dairy Science* 2006; 89: 307-14.

ADR (2006) Empfehlung 3.1 Leistungsprüfung für funktionale Merkmale bei Bullen und Kühen (Gesundheit, Reproduktion, Nutzungsdauer, Exterieur, Melkbarkeit). In: ADR-Empfehlungen und Richtlinien

ADR (2015) Rinderproduktion in Deutschland 2014

Andersson L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics* 2001; 2: 130-8.

Ashwell M, Heyen D, Weller J, Ron M, Sonstegard T, Van Tassell C, Lewin H. Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. *Journal of Dairy Science* 2004; 88: 4111-9.

Bailey-Wilson JE, Wilson AF. Linkage Analysis in the Next-Generation Sequencing Era. *Human Heredity* 2011; 72: 228-36.

Bakker DL. Studien über die Geschichte, den heutigen Zustand und die Zukunft des Rindes und seiner Zucht in den Niederlanden mit besonderer kritischer Berücksichtigung der Arbeitsweise des Niederländischen Rindviehstammbuches. Dissertation 1909; Maastricht: Aus dem Zootechnischen Institut der Universität Bern Leiter-Nypels <http://baselbern.swissbib.ch/Record/267743998>.

Becker RB (1973) Dairy cattle breeds: origin and development. University of Florida Press, Gainesville

Bello NM, Stevenson JS, Tempelman RJ. Invited review: Milk production and reproductive performance: Modern interdisciplinary insights into an enduring

axiom. Journal of Dairy Science 2012; 95: 5461-75.

Ben Jemaa S, Fritz S, Guillaume F, Druet T, Denis C, Eggen A, Gautier M. Detection of quantitative trait loci affecting non-return rate in French dairy cattle. Journal of Animal Breeding and Genetics 2008; 125: 280-8.

Berger D, Carstens M, Korsman J, Middleton F, Kloppers F, Tongoon P, Myburg A. Mapping QTL conferring resistance in maize to gray leaf spot disease caused by *Cercospora zeina*. BMC Genetics 2014; 15: 60.

Beye M, Gattermeier I, Hasselmann M, Gempe T, Schioett M, Baines JF, Schlipalius D, Mougél F, Emore C, Rueppell O, Sirvio A, Guzman-Novoa E, Hunt G, Solignac M, Page RE, Jr. Exceptionally high levels of recombination across the honey bee genome. Genome Research 2006; 16: 1339-44.

Bickeböller H, Fischer C (2007) Einführung in die Genetische Epidemiologie. Springer, Berlin

Bierstedt P, Wensch-Dorendorf M, Rosner F, Swalve HH. Untersuchungen zu Parametern der Fruchtbarkeit in Abhängigkeit von den Zuchtwerten der in Brandenburger Testherden eingesetzten Bullen. Züchtungskunde 2015; 87: 55-63.

Bloech H (1974) Ostpreußens Rinder und ihre Zuchtstätten: I. Bd. Herausgegeben von der Ostpreußischen Herdbuchgesellschaft e.V., Köln

Bloech H (1988) Ostpreußens Landwirtschaft. Landsmannschaft Ostpreußen, Abt. Kultur, Hamburg

Boichard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Boscher MY, Levéziel H. Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. Genetics Selection Evolution 2003; 35: 77-102.

Bovine Genome Database Consortium. The Bovine Genome Database. 2014:
<http://www.bovinegenome.org/cgi-bin/gbrowse/bovine31/#search>.

Brade W, Brade E. Zuchtgeschichte der Deutschen Holsteinrinder. Berichte über
Landwirtschaft - Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft 2013; 91

Brand B, Baes C, Mayer M, Reinsch N, Seidenspinner T, Thaller G, Kuhn C.
Quantitative trait loci mapping of calving and conformation traits on Bos taurus
autosome 18 in the German Holstein population. Journal of Dairy Science 2010;
93: 1205-15.

Browning BL, Browning SR. A unified approach to genotype imputation and
haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals.
The American Journal of Human Genetics 2009; 84: 210-23.

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2014) Statistisches
Jahrbuch über Ernährung, Landwirtschaft und Forsten der Bundesrepublik
Deutschland, 58. Edn. Landwirtschaftsverlag, Münster-Hiltrup

Butler ST. Genetic control of reproduction in dairy cows. Reproduction, Fertility
and Development 2014; 26: 1-11.

Campbell M, Hand K, Kelton D, Miglior F, LeBlanc S. The association of level of
milk production with reproductive performance. Journal of Dairy Science 2009;
92: E335.

Childers CP, Reese JT, Sundaram JP, Vile DC, Dickens CM, Childs KL, Salih H,
Bennett AK, Hagen DE, Adelson DL, Elsik CG. Bovine Genome Database:
integrated tools for genome annotation and discovery. Nucleic Acids Research
2011; 39: D830-4.

Cobanoglu O, Berger P, Kirkpatrick B. Genome screen for twinning rate QTL in
four North American Holstein families. Animal Genetics 2005; 36: 303-8.

Cole JB, VanRaden PM, O'Connell JR, Van Tassell CP, Sonstegard TS, Schnabel RD, Taylor JF, Wiggans GR. Distribution and location of genetic effects for dairy traits. *Journal of Dairy Science* 2009; 92: 2931-46.

Cole JB, Wiggans G, Ma L, Sonstegard T, Lawlor T, Crooker B, Van Tassell C, Yang J, Wang S, Matukumalli L, Da Y. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. *BMC Genomics* 2011; 12: 408.

Cole JB, Hutchinson JL, Null DJ, VanRaden PM, Liu GE, Schroeder SG, Smith TP, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Bickhart DM (2014a) The hunt for a functional mutation affecting conformation and calving traits on chromosome 18 in Holstein cattle. In: 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver

Cole JB, Waurich B, Wensch-Dorendorf M, Bickhart DM, Swalve HH. A genome-wide association study of calf birth weight in Holstein cattle using single nucleotide polymorphisms and phenotypes predicted from auxiliary traits. *Journal of Dairy Science* 2014b; 97: 3156-72.

Crispino JD, Lodish MB, Thurberg BL, Litovsky SH, Collins T, Molkentin JD, Orkin SH. Proper coronary vascular development and heart morphogenesis depend on interaction of GATA-4 with FOG cofactors. *Genes and Development* 2001; 15: 839-44.

Cruickshank J, Dentine M, Berger P, Kirkpatrick B. Evidence for quantitative trait loci affecting twinning rate in North American Holstein cattle. *Animal Genetics* 2004; 35: 206-12.

Cummins S, Lonergan P, Evans A, Butler ST. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *Journal of Dairy Science* 2012; 95: 3698-710.

Darvasi A, Soller M. Optimum spacing of genetic markers for determining

linkage between marker loci and quantitative trait loci. Theoretical and Applied Genetics 1994; 89: 351-7.

de Kruif A, Mansfeld R, Hoedemaker M (2013) Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. Georg Thieme Verlag

de Vries MJ, Veerkamp RF. Energy Balance of Dairy Cattle in Relation to Milk Production Variables and Fertility. Journal of Dairy Science 2000; 83: 62-9.

Dekkers JCM, Hospital F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nature Reviews Genetics 2002; 3: 22-32.

Dekkers JCM. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. Journal of Animal Science 2004; 82 E-Suppl: E313-28.

Dematawena C, Berger P. Effect of dystocia on yield, fertility, and cow losses and an economic evaluation of dystocia scores for Holsteins. Journal of Dairy Science 1997; 80: 754-61.

Deutscher Holstein Verband. Über 130 Jahre Deutsche Holsteinzucht - Wie alles begann. 2013: <http://www.holstein-dhv.de/geschichte.html>. 13.01.2014.

Deutscher Holstein Verband. Zuchtwertschätzung. Bonn: 2014: <http://www.holstein-dhv.de/zuchtwertschaetzung.html>.

Deutscher Holstein Verband. Population. 2015: <http://www.holstein-dhv.de/population.html>. 6.08.2015.

Dinno A. paran: Horn's Test of Principal Components/Factors. 2007: <http://cran.r-project.org/web/packages/paran/index.html>.

Dirksen G (2006) Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Georg Thieme

Verlag

Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 1874-82.

Druet T, Fritz S, Sellem E, Basso B, Gérard O, Salas-Cortes L, Humblot P, Druart X, Eggen A. Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 2009; 126: 269-77.

Dunne J, Evershed RP, Salque M, Cramp L, Bruni S, Ryan K, Biagetti S, di Lernia S. First dairying in green Saharan Africa in the fifth millennium BC. *Nature* 2012; 486: 390-4.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1989; 72: 68-78.

Falconer DS, MacKay TCF (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*, 4. Edn. Longmans Green, Harlow, Essex, UK

Farnir F, Grisart B, Coppieters W, Riquet J, Berzi P, Cambisano N, Karim L, Mni M, Moisisio S, Simon P, Wagenaar D, Vilkki J, Georges M. Simultaneous Mining of Linkage and Linkage Disequilibrium to Fine Map Quantitative Trait Loci in Outbred Half-Sib Pedigrees: Revisiting the Location of a Quantitative Trait Locus With Major Effect on Milk Production on Bovine Chromosome 14. *Genetics* 2002; 161: 275-87.

Felius M (1995) *Cattle Breeds - An Encyclopedia*. Trafalgar Square Books, North Pomfret, Vermont

Firk R, Stamer E, Junge W, Krieter J. Automation of oestrus detection in dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 2002; 75: 219-32.

Freyer G, Sørensen P, Kühn C, Weikard R. Investigations in the character of QTL affecting negatively correlated milk traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 2004; 121: 40-51.

Friede H (1951) Entwicklung und Leistung der ostpreußischen Rinderzucht. AID, Land- u. Hauswirtschaftl. Auswertungs- u. Informationsdienst, Frankfurt am Main

Fürst C, Gahleitner M, Lederer J, Schwarzenbacher H (2015) Rinderzucht Austria Züchterhandbuch für den erfolgreichen Rinderzüchter. Zentrale Arbeitsgemeinschaft österreichischer Rinderzüchter, Wien

Garrick DJ, Taylor JF, Fernando RL. Deregressing estimated breeding values and weighting information for genomic regression analyses. *Genetics Selection Evolution* 2009; 41: 10.1186.

Garverick HA. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1997; 80: 995-1004.

Geldermann H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers I. Methods. *Theoretical and Applied Genetics* 1975; 46: 319-30.

Geldermann H (2005) Tier-Biotechnologie. Ulmer, Stuttgart

Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Thompson R (2009) ASREML User Guide. VSN International Ltd, Hemel Hempstead, UK

Goddard ME, Hayes BJ. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics* 2009; 10: 381-91.

Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 1997; 80: 1260-8.

Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2000; 60: 605-14.

Groth J (2004) *Meine Moleküle. Deine Moleküle.* Rhombos-Verlag, Berlin

Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science* 1995; 73: 2820-33.

Guillaume F, Gautier M, Ben Jemaa S, Fritz S, Eggen A, Boichard D, Druet T. Refinement of two female fertility QTL using alternative phenotypes in French Holstein dairy cattle. *Animal Genetics* 2007; 38: 72-4.

Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G, Mendoza LG, Chee MS. A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nature Genetics* 2005; 37: 549-54.

Habier D, Tetens J, Seefried F-R, Lichtner P, Thaller G. The impact of genetic relationship information on genomic breeding values in German Holstein cattle. *Genetics Selection Evolution* 2010; 42: 5.

Haller M (2000) *Seltene Haus- & Nutztierassen.* Stocker-Verlag Graz

Hansen LB. Consequences of Selection for Milk Yield from a Geneticist's Viewpoint. *Journal of Dairy Science* 2000; 83: 1145-50.

Harms J. Betriebswirtschaftliche Betrachtungen der Lebensleistung und Nutzungsdauer von Milchkühen in Mecklenburg–Vorpommern. Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg–Vorpommern 2007;

Harris BL, Kolver ES. Review of Holsteinization on Intensive Pastoral Dairy Farming in New Zealand. *Journal of Dairy Science* 2001; 84, Supplement: E56-E61.

Hayes B, Goddard M. Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. *Genome* 2010; 53: 876-83.

Hermas SA, Young CW, Rust JW. Effects of mild inbreeding on productive and reproductive performance of Guernsey cattle. *Journal of Dairy Science* 1987; 70: 712-5.

Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 1999; 82: 295-304.

Hey J. What's So Hot about Recombination Hotspots? *PLoS Biology* 2004; 2: e190.

Hinrichs D, Thaller G. Pedigree analysis and inbreeding effects on calving traits in large dairy herds in Germany. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 4726-33.

Höglund JK, Guldbrandtsen B, Su G, Thomsen B, Lund M. Genome scan detects quantitative trait loci affecting female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 2009a; 92: 2136-43.

Höglund JK, Buitenhuis A, Guldbrandtsen B, Su G, Thomsen B, Lund M. Overlapping chromosomal regions for fertility traits and production traits in the Danish Holstein population. *Journal of Dairy Science* 2009b; 92: 5712-9.

Höglund JK, Guldbrandtsen B, Lund MS, Sahana G. Analyzes of genome-wide association follow-up study for calving traits in dairy cattle. *BMC Genetics* 2012; 13: 71.

Höglund JK, Sahana G, Guldbrandtsen B, Lund MS. Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. *BMC Genetics* 2014; 15: 8.

Holmberg M, Andersson-Eklund L. Quantitative trait loci affecting fertility and calving traits in Swedish dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2006; 89: 3664-71.

Hossein-Zadeh NG, Nejati-Javaremi A, Miraei-Ashtiani SR, Kohram H. An Observational Analysis of Twin Births, Calf Stillbirth, Calf Sex Ratio, and Abortion in Iranian Holsteins. *Journal of Dairy Science* 2008; 91: 4198-205.

Hu Z-L, Park CA, Wu X-L, Reecy JM. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research* 2013; 41: D871-D9.

Huxley J, Whay H. Current attitudes of cattle practitioners to pain and the use of analgesics in cattle. *Veterinary Record* 2006; 159: 662-8.

Illumina. Data Sheet: DNA Analysis BovineSNP50 Genotyping Bead Chip Featuring 54,609 evenly spaced SNP probes that span the bovine genome. 2012: http://www.illumina.com/Documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf. 15.10.2013.

Inchaisri C, Hogeveen H, Vos PLAM, van der Weijden GC, Jorritsma R. Effect of milk yield characteristics, breed, and parity on success of the first insemination in Dutch dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2010; 93: 5179-87.

Ingvartsen KL, Andersen HR, Foldager J. Effect of sex and pregnancy on feed intake capacity of growing cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica A-Animal Sciences* 1992; 42: 40-6.

Johanson JM, Berger PJ. Birth Weight as a Predictor of Calving Ease and Perinatal Mortality in Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science* 2003; 86: 3745-55.

Kadri NK, Sahana G, Charlier C, Iso-Touru T, Guldbrandtsen B, Karim L, Nielsen US, Panitz F, Aamand GP, Schulman N, Georges M, Vilkkki J, Lund MS,

Druet T. A 660-Kb deletion with antagonistic effects on fertility and milk production segregates at high frequency in Nordic Red cattle: Additional evidence for the common occurrence of balancing selection in livestock. *PLoS Genetics* 2014; 10: e1004049.

Kanitz W, Brüssow K-P, Bugislaus A-E, Kühn C, Matthes C, Wangler A. Verbesserung funktionaler Merkmale: Eine Herausforderung zur vertieften Phänotypisierung. *Archiv Tierzucht, Dummerstorf* 2008; 51: 83-97.

Karlsson EK, Baranowska I, Wade CM, Hillbertz NHS, Zody MC, Anderson N, Biagi TM, Patterson N, Pielberg GR, Kulbokas EJ. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics* 2007; 39: 1321-8.

Kaupe B, Brandt H, Prinzenberg E, Erhardt G. Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science* 2007; 85: 11-21.

Kim E-S, Shi X, Cobanoglu O, Weigel K, Berger P, Kirkpatrick B. Refined mapping of twinning-rate quantitative trait loci on bovine chromosome 5 and analysis of insulin-like growth factor-1 as a positional candidate gene. *Journal of Animal Science* 2009; 87: 835-43.

Kirkpatrick BW, Byla BM, Gregory KE. Mapping quantitative trait loci for bovine ovulation rate. *Mammalian Genome* 2000; 11: 136-9.

Klug WS, Cummings MR, Spencer CA (2007) *Genetik*, 8. Edn. Pearson Studium, München

Kong A, Gudbjartsson DF, Sainz J, Jonsdottir GM, Gudjonsson SA, Richardsson B, Sigurdardottir S, Barnard J, Hallbeck B, Masson G. A high-resolution recombination map of the human genome. *Nature Genetics* 2002; 31: 241-7.

König S, Hübner G, Sharifi AR, Bohlsen E, Detterer J, Simianer H, Holtz W. Beziehung zwischen dem somatischen Zellgehalt und dem Erstbesamungserfolg in Milchviehherden Ostfrieslands, analysiert mit logistischen Modellen. Züchtungskunde 2006; 78: 89-101.

Köppe-Forsthoff J (1967) 100 Jahre Deutsche Schwarzbuntzucht. Verband deutscher Schwarzbuntzüchter e.V., Hiltrup

Kühn C, Bennewitz J, Reinsch N, Xu N, Thomsen H, Looft C, Brockmann GA, Schwerin M, Weimann C, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Förster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Russ I, Averdunk G, Blumel J, Kalm E. Quantitative trait loci mapping of functional traits in the German Holstein cattle population. Journal of Dairy Science 2003; 86: 360-8.

LeBlanc SJ. Is a high level of milk production compatible with good reproductive performance in dairy cows? Animal Frontiers 2013; 3: 84-91.

Lee SH, van der Werf JH. The efficiency of designs for fine-mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibrium and linkage. Genetics Selection Evolution 2004; 36: 145-61.

Lee SH, Van der Werf JHJ. The Role of Pedigree Information in Combined Linkage Disequilibrium and Linkage Mapping of Quantitative Trait Loci in a General Complex Pedigree. Genetics 2005; 169: 455-66.

Lee SH, Van der Werf JHJ. Using dominance relationship coefficients based on linkage disequilibrium and linkage with a general complex pedigree to increase mapping resolution. Genetics 2006; 174: 1009-16.

Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. Bioinformatics 2009; 25: 1754-60.

Lichten M, Goldman AS. Meiotic recombination hotspots. Annual Review of

Genetics 1995; 29: 423-44.

Lien S, Karlsen A, Klemetsdal G, Våge DI, Olsaker I, Klungland H, Aasland M, Heringstad B, Ruane J, Gomez-Raya L. A primary screen of the bovine genome for quantitative trait loci affecting twinning rate. *Mammalian Genome* 2000; 11: 877-82.

Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science* 2001; 84: 1277-93.

Lührmann B (2015) Voraussetzungen für eine erfolgreiche Milcherzeugung, Gastvorlesung, Oberschleißheim, Wiederkäuerklinik

Macmillan KL, Lean IJ, Westwood CT. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 1996; 73: 141-7.

Maltecca C, Weigel K, Khatib H, Cowan M, Bagnato A. Whole-genome scan for quantitative trait loci associated with birth weight, gestation length and passive immune transfer in a Holstein \times Jersey crossbred population. *Animal Genetics* 2009; 40: 27-34.

Maltecca C, Gray KA, Weigel KA, Cassady JP, Ashwell M. A genome-wide association study of direct gestation length in US Holstein and Italian Brown populations. *Animal Genetics* 2011; 42: 585-91.

Martín-Tereso J, Martens H. Calcium and Magnesium Physiology and Nutrition in Relation to the Prevention of Milk Fever and Tetany (Dietary Management of Macrominerals in Preventing Disease). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2014; 30: 643-70.

Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O'Connell J, Moore SS, Smith TP, Sonstegard TS. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS One*

2009; 4: e5350.

Matukumalli LK, Lawley CT, Georges M, Coppieters W, Gietzen K, Medrano J, Rincon G, Lince D, Eggen A, Glaser L (2011) Analyzing LD blocks and CNV segments in cattle: novel genomic features identified using the BovineHD BeadChip. In: Pub. No. 370-2011-002. Illumina Inc., San Diego, CA

Maynard Smith J, Haigh J. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research* 1974; 23: 23-35.

McGowan BM, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Relaxin-3 and its role in neuroendocrine function. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2009; 1160: 250-5.

McGuirk B, Forsyth R, Dobson H. Economic cost of difficult calvings in the United Kingdom dairy herd. *Veterinary Record* 2007; 161: 685-7.

Medugorac I, Seichter D, Graf A, Russ I, Blum H, Göpel KH, Rothhammer S, Förster M, Krebs S. Bovine Polledness – An Autosomal Dominant Trait with Allelic Heterogeneity. *PLoS One* 2012; 7: e39477.

Mee J. Prevalence and risk factors for dystocia in dairy cattle: A review. *The Veterinary Journal* 2008; 176: 93-101.

Meijering A. Dystocia and stillbirth in cattle — A review of causes, relations and implications. *Livestock Production Science* 1984; 11: 143-77.

Menissier F, Foulley J. Present situation of calving problems in the EEC: incidence of calving difficulties and early calf mortality in beef herds. In: *Calving Problems and Early Viability of the Calf*: Springer 1979: 30-85.

Meuwissen THE, Goddard ME. Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genetics Selection Evolution* 2001; 33: 605-34.

Meuwissen THE, Karlsen A, Lien S, Olsaker I, Goddard ME. Fine mapping of a quantitative trait locus for twinning rate using combined linkage and linkage disequilibrium mapping. *Genetics* 2002; 161: 373-9.

Meuwissen THE, Goddard ME. Mapping multiple QTL using linkage disequilibrium and linkage analysis information and multitrait data. *Genetics Selection Evolution* 2004; 36: 261-79.

Milchindustrie-Verband. Deutschland: Pro-Kopf-Verbrauch von Milchprodukten. 2015:
http://www.milchindustrie.de/uploads/tx_news/ProkopfDeutschland_Mopro_1990-2014_Homepage.pdf.

Minozzi G, Nicolazzi EL, Stella A, Biffani S, Negrini R, Lazzari B, Ajmone-Marsan P, Williams JL. Genome wide analysis of fertility and production traits in Italian Holstein cattle. *PLoS One* 2013; 8: e80219.

Morgan TH. Random segregation versus coupling in Mendelian inheritance. *Science* 1911; 34: 384.

Murken J, Grimm T, Holinski-Federer E (2006) Taschenlehrbuch Humangenetik, 7. Edn. Thieme, Stuttgart; New York

Murphy VE, Smith R, Giles WB, Clifton VL. Endocrine regulation of human fetal growth: the role of the mother, placenta, and fetus. *Endocrine Reviews* 2006; 27: 141-69.

Nebel R, McGilliard M. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1993; 76: 3257-68.

Olsen HG, Lien S, Svendsen M, Nilsen H, Roseth A, Opsal MA, Meuwissen THE. Fine mapping of milk production QTL on BTA6 by combined linkage and linkage disequilibrium analysis. *Journal of Dairy Science* 2004; 87: 690-8.

Olsen HG, Hayes BJ, Kent MP, Nome T, Svendsen M, Larsgard AG, Lien S. Genome-wide association mapping in Norwegian Red cattle identifies quantitative trait loci for fertility and milk production on BTA12. *Animal Genetics* 2011; 42: 466-74.

Pausch H, Flisikowski K, Jung S, Emmerling R, Edel C, Götz K-U, Fries R. Genome-wide association study identifies two major loci affecting calving ease and growth-related traits in cattle. *Genetics* 2011; 187: 289-97.

Peñagaricano F, Khatib H. Association of milk protein genes with fertilization rate and early embryonic development in Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Research* 2012; 79: 47-52.

Pérez O'Brien AM, Mészáros G, Utsunomiya YT, Sonstegard TS, Garcia JF, Van Tassell CP, Carvalheiro R, da Silva MVB, Sölkner J. Linkage disequilibrium levels in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle using medium and high density SNP chip data and different minor allele frequency distributions. *Livestock Science* 2014; 166: 121-32.

Peters J (1909) Über Blutlinien und Verwandtschaftszuchten: nach Erhebungen der Ostpreußischen Holländer Herdbuchgesellschaft. Schaper, Hannover

Philipsson J, Foulley JL, Lederer J, Liboriussen T, Osinga A. Sire evaluation standards and breeding strategies for limiting dystocia and stillbirth. Report of an E.E.C./E.A.A.P. working group. *Livestock Production Science* 1979; 6: 111-27.

Pickett H. The Impact of Selection for High Milk Yield on the Health and Welfare of Dairy Cattle. 2008: <https://www.ciwf.org.uk/media/3818641/impact-of-selection-on-health-and-welfare-of-dairy-cattle.pdf>.

Potgieter JP. Estimation of genetic parameters for fertility traits and the effect of milk production on reproduction performance in South African Holstein cows. Masterarbeit 2012; Stellenbosch: Stellenbosch University

Powell JE, Visscher PM, Goddard ME. Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. *Nature Reviews Genetics* 2010; 11: 800-5.

Pryce J, Esslemont R, Thompson R, Veerkamp R, Kossaibati M, Simm G. Estimation of genetic parameters using health, fertility and production data from a management recording system for dairy cattle. *Animal Science* 1998; 66: 577-84.

Pryce JE, Veerkamp RF, Thompson R, Hill WG, Simm G. Genetic aspects of common health disorders and measures of fertility in Holstein Friesian dairy cattle. *Animal Science* 1997; 65: 353-60.

Pryce JE, Royal MD, Garnsworthy PC, Mao IL. Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 2004; 86: 125-35.

Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics* 2007; 81: 559-75.

Purfield DC, Bradley DG, Kearney FJ, Berry DP. Genome-wide association study for calving traits in Holstein–Friesian dairy cattle. *Animal* 2014; 8: 224-35.

Purfield DC, Bradley DG, Evans RD, Kearney FJ, Berry DP. Genome-wide association study for calving performance using high-density genotypes in dairy and beef cattle. *Genetics Selection Evolution* 2015; 47: 47.

R Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria

Rauw WM, Kanis E, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers FJ. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science* 1998; 56: 15-33.

Reents R, Reinhardt F, Götz KU, Liu Z. Internationale Aspekte der genomischen Zuchtwertschätzung. *Züchtungskunde* 2011; 83: 272-9.

Reese JT, Childers CP, Sundaram JP, Dickens CM, Childs KL, Vile DC, Elisk CG. Bovine Genome Database: supporting community annotation and analysis of the *Bos taurus* genome. *BMC Genomics* 2010; 11: 645.

Reinsch N, Thomsen H, Xu N, Brink M, Looft C, Kalm E, Brockmann G, Grupe S, Kühn C, Schwerin M, Leyhe B, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Russ I, Förster M, Reents R, Averdunk G. A QTL for the degree of spotting in cattle shows synteny with the KIT locus on chromosome 6. *Journal of Heredity* 1999; 90: 629-34.

Robinson JT, Thorvaldsdottir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, Mesirov JP. Integrative genomics viewer. *Nat Biotech* 2011; 29: 24-6.

Römer A. Untersuchungen zur Nutzungsdauer bei Deutschen Holstein Kühen. *Züchtungskunde* 2011; 83: 8-20.

Rothammer S, Kremer PV, Bernau M, Fernandez-Figares-Ibanez I, Pfister-Schär J, Medugorac I, Scholz AM. Genome-wide QTL-mapping of nine body composition and bone mineral density traits in pigs. *Genetics Selection Evolution* 2014; 46: 68.

Royal MD. Genetic variation in endocrine parameters of fertility in dairy cattle. Dissertation 1999; Nottingham, UK: University of Nottingham

Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woolliams JA, Lamming GE. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science* 2000; 70: 487-501.

Royal MD, Flint APF, Woolliams JA. Genetic and Phenotypic Relationships Among Endocrine and Traditional Fertility Traits and Production Traits in

Holstein-Friesian Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 2002a; 85: 958-67.

Royal MD, Pryce JE, Woolliams JA, Flint AP. The genetic relationship between commencement of luteal activity and calving interval, body condition score, production, and linear type traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2002b; 85: 3071-80.

Rutledge J. Twinning in cattle. *Journal of Animal Science* 1975; 40: 803-15.

Sahana G, Guldbrandtsen B, Bendixen C, Lund M. Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Animal Genetics* 2010; 41: 579-88.

Sahana G, Guldbrandtsen B, Lund MS. Genome-wide association study for calving traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 479-86.

Samraus HH (1991) *Nutztierkunde*. Ulmer, Stuttgart

Samraus HH (2011) *Farbatlas Nutztierassen*, 7. Edn. Ulmer, Stuttgart

Sarmiento SS. Untersuchungen zur verzögerten Ovulation beim Rind. Dissertation 2004; München: Tierärztliche Fakultät Ludwig-Maximilians-Universität

Schnabel R, Sonstegard T, Taylor J, Ashwell M. Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. *Animal Genetics* 2005; 36: 408-16.

Scholz H, Beyer B, Anacker G, Wähner M. Wechselbeziehungen zwischen dem Milchleistungsniveau, der Fruchtbarkeit und dem Krankheitsgeschehen bei Holstein Friesian Milchkühen. *Archiv Tierzucht, Dummerstorf* 2010; 53

Schrooten C, Bovenhuis H, Coppieters W, Van Arendonk J. Whole genome scan

to detect quantitative trait loci for conformation and functional traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2000; 83: 795-806.

Schrooten C, Bink M, Bovenhuis H. Whole genome scan to detect chromosomal regions affecting multiple traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2004; 87: 3550-60.

Schulman NF, Sahana G, Lund MS, Viitala SM, Vilkki JH. Quantitative trait loci for fertility traits in Finnish Ayrshire cattle. *Genetics Selection Evolution* 2008; 40: 195-214.

Seidenspinner T. Molekulargenetische Charakterisierung von chromosomalen Bereichen mit Einfluss auf Merkmale des Geburtsverlaufs in der Rasse Deutsche Holstein. Dissertation 2009; Kiel: Agrar-und Ernährungswissenschaftliche Fakultät, Institut für Tierzucht und Tierhaltung Christian-Albrechts-Universität

Seidenspinner T, Bennewitz J, Reinhardt F, Thaller G. Need for sharp phenotypes in QTL detection for calving traits in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 2009; 126: 455-62.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006; 65: 1516-30.

Silvia WJ. Changes in reproductive performance of Holstein dairy cows in Kentucky from 1972 to 1996. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 244.

Solignac M, Mougel F, Vautrin D, Monnerot M, Cornuet JM. A third-generation microsatellite-based linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, and its comparison with the sequence-based physical map. *Genome Biology* 2007; 8: R66.

Spelman R, Huisman A, Singireddy S, Coppieters W, Arranz J, Georges M, Garrick D. Short communication: quantitative trait loci analysis on 17

nonproduction traits in the New Zealand dairy population. *Journal of Dairy Science* 1999; 82: 2514-6.

Stevenson JS. Are your cows cycling; if not why. *Hoard's Dairyman* 2000; 145: 202-3.

Stevenson JS. Eleven truths about ovarian cysts. *Hoard's Dairyman* 2012; 157: 21.

Stockrahm S. Warum wir Milch trinken. 2009; *Die Zeit*: <http://www.zeit.de/online/2009/36/milchtrinken-evolution>.

Storch V, Welsch U, Wink M (2013) *Evolutionsbiologie*, 3. Edn. Springer, Berlin, Heidelberg

Sutton WS. The chromosomes in heredity. *The Biological Bulletin* 1903; 4: 231-50.

Svensson EC, Huggins GS, Lin H, Clendenin C, Jiang F, Tufts R, Dardik FB, Leiden JM. A syndrome of tricuspid atresia in mice with a targeted mutation of the gene encoding Fog-2. *Nature Genetics* 2000; 25: 353-6.

Swalve HH. Neue Ansätze in der züchterischen Bearbeitung funktionaler Merkmale. *Archiv Tierzucht, Dummerstorf* 2003; 46: 63-71.

Tevosian SG, Deconinck AE, Tanaka M, Schinke M, Litovsky SH, Izumo S, Fujiwara Y, Orkin SH. FOG-2, a cofactor for GATA transcription factors, is essential for heart morphogenesis and development of coronary vessels from epicardium. *Cell* 2000; 101: 729-39.

Thomasen JR, Guldbrandtsen B, Sorensen P, Thomsen B, Lund MS. Quantitative trait loci affecting calving traits in Danish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 2008; 91: 2098-105.

Thomsen H, Reinsch N, Xu N, Looft C, Grupe S, Kühn C, Brockmann GA, Schwerin M, Leyhe-Horn B, Hiendleder S, Erhardt G, Medjugorac I, Russ I, Förster M, Brenig B, Reinhardt F, Reents R, Blümel J, Averdunk G, Kalm E. A male bovine linkage map for the ADR granddaughter design. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 2000; 117: 289-306.

Thorvaldsdottir H, Robinson JT, Mesirov JP. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Briefings in bioinformatics* 2013; 14: 178-92.

Van Dorp TE, Dekkers JC, Martin SW, Noordhuizen JP. Genetic parameters of health disorders, and relationships with 305-day milk yield and conformation traits of registered Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 1998; 81: 2264-70.

van Knegsel ATM, Van Den Brand H, Dijkstra J, Tamminga S, Kemp B. Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. *Reproduction Nutrition Development* 2005; 45: 665-88.

Vanooijen JW. Accuracy of Mapping Quantitative Trait Loci in Autogamous Species. *Theoretical and Applied Genetics* 1992; 84: 803-11.

VanRaden P, Miller R. Effects of nonadditive genetic interactions, inbreeding, and recessive defects on embryo and fetal loss by seventy days. *Journal of Dairy Science* 2006; 89: 2716-21.

VanRaden P, Olson K, Wiggans G, Cole J, Tooker M. Genomic inbreeding and relationships among Holsteins, Jerseys, and Brown Swiss. *Journal of Dairy Science* 2011; 94: 5673-82.

Veerkamp RF, Beerda B, van der Lende T. Effects of genetic selection for milk yield on energy balance, levels of hormones, and metabolites in lactating cattle, and possible links to reduced fertility. *Livestock Production Science* 2003; 83: 257-75.

Visscher PM, Goddard ME. Prediction of the confidence interval of quantitative trait loci location. *Behavior Genetics* 2004; 34: 477-82.

Visscher PM. Sizing up human height variation. *Nature Genetics* 2008; 40: 489-90.

VIT (2014) Beschreibung der Zuchtwertschätzung für Milchleistungsmerkmale, Zellzahl, Exterieurmerkmale, Nutzungsdauer und Zuchtleistungsmerkmale, Verden

VIT (2015) Trends – Fakten – Zahlen 2014. Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w. V., Verden

Waurich B. Genetische Parameter von Kalbmerkmalen beim Milchrind der Rasse Deutsche Holstein. Dissertaion 2013; Halle-Wittenberg: Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Naturwissenschaftlichen Fakultät III Martin-Luther-Universität

Weng Z-Q, Saatchi M, Schnabel RD, Taylor JF, Garrick DJ. Recombination locations and rates in beef cattle assessed from parent-offspring pairs. *Genetics Selection Evolution* 2014; 46: 34.

Yang J, Zaitlen NA, Goddard ME, Visscher PM, Price AL. Advantages and pitfalls in the application of mixed-model association methods. *Nature Genetics* 2014; 46: 100-6.

Zelfel S. Sind hohe Milchleistungen mit guten Reproduktionsergebnissen bei Schwarzbunten Holsteins vereinbar? Schenkenberg: Portal-Rind.de 2008; Fruchtbarkeit: http://www.portal-rind.de/index.php?module=Downloads&func=prep_hand_out&lid=28.

Zeller-Adam R. Genomweite eQTL-Kartierung ausgewählter Expressionsprofile für das Merkmal Placentaretention in Holstein-Kühen. Dissertation 2013;

München: Fakultät für Tiermedizin Ludwig-Maximilian Universität

IX. ANHANG

Tabelle 8: Ausreißer der deregressierten Zuchtwerte, die für eine *cLDLA* ausgeschlossen wurden.

Die 2. Spalte zeigt das Ergebnis des deregressierten Zuchtwertes (de-), die 3. und 4. Spalte zeigen Zuchtwert und Sicherheit (w-) für das entsprechende Tier (-t). Die 5. und 6. Spalte für den Vater (-v) sowie die 7. und 8. Spalte für die Mutter (-m).

Tiere-mTG	demTG	mTGt	wmTGt	mTGv	wmTGv	mTGm	wmTGm
Tier 3	-37,1	92,0	29	81,8	78	102,9	37
Tier 6	2,6	86,0	33	95,9	99	80,0	25
Tier 9	28,5	60,6	57	66,2	72	85,9	47
Tier 8	29,9	60,6	57	66,2	72	85,9	47
Tier 2	800,7	94,3	43	95,9	99	87,2	72
Tiere-pTG	depTG	pTGt	wpTGt	pTGv	wpTGv	pTGm	wpTGm
Tier 3	-54,9	92,8	31	95,4	78	96,8	38
Tier 10	2,0	62,0	56	86,3	99	84,9	38
Tier 7	31,4	75,5	54	87,8	91	96,6	35
Tier 1	223	105,6	31	104,9	80	101,7	37
Tiere-mKV	demKV	mKVt	wmKVt	mKVv	wmKVv	mKVm	wmKVm
Tier 3	-263,6	92,9	28	84,9	76	99,0	37
Tier 6	-31,3	97,4	32	105,1	98	93,4	25
Tier 8	34,4	77,4	56	84,2	70	86,6	46
Tier 5	186,6	102,4	35	101,1	99	101,1	36
Tier 11	209,8	103,7	31	108,7	90	97,5	32
Tier 2	228,2	101,7	43	105,1	98	94,4	70
Tier 4	277,4	100,7	26	105,6	66	94,9	37
Tiere-pKV	depKV	pKVt	wpKVt	pKVv	wpKVv	pKVm	wpKVm
Tier 3	-9,8	96,8	33	103,4	83	96,4	39
Tier 10	14,6	56,8	66	89,1	99	84,9	44
Tier 7	24,1	60,9	64	83,3	94	87,6	39
Tier 1	230,9	106,8	33	105,3	85	102,5	39

Tabelle 9: Mit der kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse kartierte QTL.

Dargestellt werden deren Phänotyp, Positionen, LRT_{max} -Wert, die jeweiligen 2-LOD-Intervall-Grenzen (- für die untere, + für die obere Grenze) sowie die daraus resultierenden Konfidenzintervalle (CI) in den letzten zwei Spalten für den gesamten QTL.

QTL	Phänotyp	Position	LRT_{max}	-2-LOD-Intervall-Grenze	+2-LOD-Intervall-Grenze	Beginn CI	Ende CI
3.1	mTG	17.500.312	20,58	16.229.866	18.418.688	16.229.866	18.418.688
4.1	DO	64.138.408	25,5	63.402.100	64.566.792	63.294.560	66.956.696
	RZ	64.255.608	24,42	63.332.592	65.323.432		
	RZ	66.571.280	20,9	63.294.560	66.956.696		
4.2	NRR56-K	79.095.824	21,62	78.598.160	79.810.568	78.570.840	83.064.144
	NRR56-K	80.476.304	24,24	79.963.024	83.016.680		
	NRR56-K	81.276.128	20,92	78.570.840	83.064.144		
4.3	VZK	82.980.528	19,521	81.977.056	85.995.704	81.977.056	85.995.704
	VZK	83.977.648	23	82.061.696	85.317.040		
4.4	NRR56-K	86.667.432	21,721	85.559.104	86.793.608	85.559.104	86.793.608
5.1	DO	17.115.856	20,26	16.967.248	18.008.814	16.967.248	18.008.814
	RZ	17.115.856	20,08	16.967.248	18.008.814		
5.2	pKV	59.152.132	19,88	55.978.176	60.278.480	55.978.176	63580096*
	pTG	59.152.132	21,48	57.990.432	60.278.480		
	pTG	62.115.292	19,8	61.344.408	68.424.352		
5.3	pKV	65.954.352	22,86	63.708.608	68.424.352	63.708.608	68.424.352
	pTG	67.925.480	24,08	64.260.632	68.375.120		
	pKV	67.994.072	22,96	63.708.608	68.424.352		
5.4	RZ	89.823.168	19,82	88.927.400	93.978.248	88.927.400	93.978.248
6.1	DO	45.489.692	19,939	43.933.680	47.877.736	43.933.680	47.877.736
6.2	DO	89.119.008	24,72	88.464.144	89.937.544	87.658.304	92.843.432
	DO	91.250.160	20,76	87.658.304	92.843.432		
	RZ	91.362.376	22,74	90.756.816	91.672.568		
6.3	mTG	112.222.152	22,92	111.401.704	113.840.648	111.356.448	113.840.648
	mTG	113.061.480	23,26	111.356.448	113.840.648		
6.4	mTG	114.958.192	24,439	114.591.224	115.072.400	114.591.224	115.072.400
7.1	pKV	7.260.348	22,66	6.338.948	8.346.253	6.338.948	15.907.424
	pKV	10.617.091	22,5	8.909.124	13.447.101		
	pKV	11.860.695	28,74	9.101.074	13.213.260		
	pKV	15.447.476	28	14.465.366	15.907.424		
	pTG	11.860.695	21,84	9.101.074	12.416.950		
9.1	VZK	55.602.800	26,061	53.484.176	57.398.820	53.484.176	59.583.728
	VZK	58.557.872	23,58	57.637.600	59.583.728		
10.1	DO	34.806.460	24,06	33.403.448	38.487.140	33.403.448	38.487.140
	DO	36.646.012	27,84	35.794.236	37.625.424		
	RZ	34.277.184	20,16	33.539.836	36.821.600		
	RZ	34.481.592	20,261	33.678.048	36.783.148		
	VZK	36.646.012	25,42	36.044.728	37.575.456		
11.1	NRR56-R	30.188.228	20,76	29.392.336	31.507.764	29.392.336	31.507.764
11.2	NRR56-R	60.139.480	25,72	59.572.488	60.289.840	59.173.476	61.913.288
	NRR56-R	61.215.016	20,04	59.173.476	61.913.288		
11.3	mKV	78.398.688	24,78	77.923.336	78.742.032	77.923.336	78.742.032

11.4	VZK	82.877.192	19,761	82.707.456	83.116.088	82.707.456	83.116.088
11.5	mTG	92.271.528	22,18	92.108.024	92.710.616	92.108.024	92.710.616
11.6	mTG	96.255.512	20,22	95.485.248	98.346.368	95.485.248	98.346.368
12.1	RZ	6.085.616	20,141	5.240.630	6.891.264	5.240.630	6.891.264
12.2	mKV	25.922.100	26,28	25.295.396	26.583.152	25.295.396	26.583.152
14.1	VZR	59.849.356	22,061	58.568.400	62.390.948	58.426.288	62.390.948
	VZR	61.369.572	21,221	58.426.288	62.390.948		
14.2	VZK	72.977.472	20,601	70.548.176	73.908.416	70.548.176	73.908.416
18.1	RZ	44.963.112	27,48	44.543.384	46.396.728	44.543.384	46.396.728
18.2	mKV	52.503.488	19,74	52.035.136	53.042.160	52.035.136	53.042.160
18.3	mTG	54.331.572	19,92	54.040.400	54.481.864	54.040.400	54.481.864
18.4	pKV	55.849.872	54,92	55.282.968	56.209.120	55.282.968	60.119.636
	pKV	57.688.764	139,8	57.577.264	57.879.104		
	pKV	59.179.424	160,92	58.681.172	59.732.548		
	pTG	55.924.624	43,64	55.282.968	56.259.620		
	pTG	57.688.764	85,479	57.449.184	57.822.060		
	pTG	59.179.424	102,08	58.681.172	60.119.636		
18.5	DO	58.320.692	31,2	57.206.512	58.608.792	57.206.512	59.732.548
	VZK	58.378.336	30,82	58.112.328	59.732.548		
18.6	mKV	59.179.424	31,24	57.959.312	60.119.636	57.959.312	60.119.636
18.7	pKV	62.692.824	27,74	62.624.960	62.738.976	62.624.960	64.521.568
	pKV	63.143.652	76,62	63.108.024	63.390.548		
	pKV	64.453.288	26,28	64.397.252	64.521.568		
	pTG	63.143.652	44,16	63.108.024	63.390.548		
19.1	pKV	31.288.920	21,8	31.072.674	33.523.396	31.072.674	33.523.396
19.2	NRR56-R	33.960.888	21,96	32.801.004	34.759.236	32.801.004	36.654.424
	NRR56-R	35.699.856	20,119	35.082.160	36.654.424		
21.1	RZ	69.251.120	23,34	68.542.840	70.103.392	68.542.840	70.103.392
22.1	VZK	54.308.968	23,061	53.962.952	54.892.716	53.962.952	54.892.716
22.2	VZK	60.042.956	23,561	59.473.456	60.094.776	59.473.456	60.094.776
23.1	DO	29.704.122	19,54	28.638.672	30.068.122	28.362.210	30.068.122
	RZ	29.704.122	20,82	28.362.210	30.068.122		
23.2	VZR	45.295.144	20,78	44.735.156	45.768.732	44.735.156	45.768.732
23.3	NRR56-K	47.447.552	20,521	47.162.736	48.110.124	46.490.824	49.534.016
	NRR56-R	47.447.552	25,5	47.236.176	48.580.288		
	NRR56-R	49.045.904	21,279	46.490.824	49.534.016		
23.4	VZR	47.391.664	28,58	47.236.176	48.110.124	47.236.176	48.110.124
25.1	mKV	11.815.922	25,42	11.608.013	11.949.150	11.608.013	12.059.154
	mKV	11.902.050	23,34	11.874.838	11.949.150		
	mKV	12.002.861	21,94	11.949.150	12.059.154		
25.2	mKV	20.633.582	26,38	19.530.082	20.938.330	19.446.734	27.005.838
	mKV	21.377.844	23,98	19.446.734	22.863.676		
25.3	pTG	25.827.850	19,58	25.650.408	27.005.838	25.650.408	27.005.838
26.1	VZK	7.293.437	25,42	7.038.682	8.630.166	7.038.682	8.630.166
26.2	DO	28.501.052	20,12	27.058.344	29.789.824	27.058.344	29.789.824
27.1	DO	8.815.920	20,18	7.699.264	9.295.928	7.699.264	9.295.928
27.2	NRR56-K	12.656.990	21,181	11.728.440	12.806.370	11.728.440	12.806.370
29.1	DO	22.585.872	21,08	21.958.846	23.955.240	21.958.846	23.955.240

* Dieser QTL überschneidet eigentlich mit dem nächstgelegenen QTL, jedoch korreliert keiner dieser LRT_{max} . Da das exakte 2-LOD Intervall den nächsten QTL (nicht korreliert) einschließen würde, wurde der niedrigste LRT -Wert (11,26) zwischen den beiden QTL anstelle des tatsächlichen 2-LOD Wertes ($LRT < 10.59$) gewählt

Tabelle 10: In der Literatur gefundene QTL.

Gelistet werden alle in der Literatur gefundenen QTL mit dazugehörigen Markern, welche mit den Konfidenzintervallen der QTL der cLDLA überschneiden und ebenfalls für Holstein-Friesian kartiert wurden. Die Non-return-Rate (NRR), paternaler Kalbeverlauf (pKV) und paternale Totgeburt (pKV), maternaler Kalbeverlauf (mKV) und maternale Totgeburt (mTG), Rastzeit (RZ) sowie paternal (pat.) und maternal (mat.) werden abgekürzt.

BTA	Start (bp)	Ende (bp)	Merkmal	Marker	Autor
3	438.847	27.776.281	pat. NRR 90d. Rinder	BMS871 – BL41	BEN JEMAA et al. (2008)
3	13.846.736	13.846.755	pat. NRR 282d.	ILSTS096~	GUILLAUME et al. (2007)
3	13.846.736	13.846.755	NRR 56d	ILSTS096~	GUILLAUME et al. (2007)
4	57.877.634	63.721.569	pKV	TGLA116 – INRA072~	THOMASEN et al. (2008)
5	12.344.837	24.061.056	pat. NRR 56d	BP1-AGLA293	SCHROOTEN et al. (2004)
5	25.000.000	35.000.000	Zwillingsgeburt	–	KIM et al. (2009)
5	50.000.000	--	Zwillingsgeburt	–	KIM et al. (2009)
5	53.296.546	62.138.446	Zwillingsgeburt	BMS490-CSSM022	CRUICKSHANK et al. (2004)
5	62.125.530	71.561.898	Zwillingsgeburt	ILSTS066-BMS1216	KIM et al. (2009)
5	62.125.683	62.138.446	Zwillingsgeburt	ILSTS066-CSSM022	MEUWISSEN et al. (2002)
5	66.532.877	71.561.898	Zwillingsgeburt	IGF1-BMS1216	LIEN et al. (2000)
5	66.532.877	97.454.531	Statur: Körpergröße	IGF1 – BM315	SCHROOTEN et al. (2000)
5	66.532.877	97.454.531	Geburtsgewicht	IGF1 – BM315	SCHROOTEN et al. (2000)
5	69.000.000	–	Zwillingsgeburt	–	KIM et al. (2009)
5	97.454.424	105.445.192	Ovulationsrate	bm315 – UW48	KIRKPATRICK et al. (2000)
6	1.060.387	1.060.577	mKV	ILSTS093	SEIDENSPINNER et al. (2009)
6	44.282.116	44.282.229	pKV	BM143	HOLMBERG und ANDERSSON-EKLUND (2006)
6	46.821.978	46.821.999	pKV	BMS690~	SCHROOTEN et al. (2000)
6	51.338.468	69.729.469	Tragzeit	BMS518 – BM4621*	MALTECCA et al. (2009)
6	92.416.452	92.416.534	Tragzeit	BMS2460*	MALTECCA et al. (2009)
6	94.156.599	117.801.730	Plazentaretenti-	BM4311 –	HÖGLUND et al.

			on	BM2320~	(2009b)
6	94.156.599	117.801.730	kombiniertes Merkmal: Gebärmutterentzündung und in der Plazenta abgelegte Antibiotika	BM4311 – BM2320~	HÖGLUND et al. (2009b)
6	95.088.775	117.801.730	pat. NRR 56d	BP7 – BM2320~	SCHROOTEN et al. (2004)
6	95.088.775	117.801.730	RZ	BP7 – BM2320~	SCHROOTEN et al. (2000)
7	30.308	8.193.566	pKV	BM7160 – BMS713	KÜHN et al. (2003)
7	30.308	8.193.566	pTG	BM7160 – BMS713	KÜHN et al. (2003)
7	8.193.414	8.193.566	Tragzeit	BMS713*	MALTECCA et al. (2009)
7	8.193.414	25.420.941	Tragzeit	BMS713 – BMS6105*	MALTECCA et al. (2009)
9	10.858.122	42.006.747	pKV Rinder	ETH255~ – CSSM025	SEIDENSPINNER et al. (2009)
9	75.487.455	75.487.574	Anzahl der Besamungen beim Rinder	TGLA73	HOLMBERG und ANDERSSON-EKLUND (2006)
9	75.487.455	75.487.574	NRR 56d Rinder	TGLA73	HOLMBERG und ANDERSSON-EKLUND (2006)
9	94.553.047	94.553.192	pat. NRR 56d	CSSM56	SCHROOTEN et al. (2004)
10	26.288.223	35.790.240	Zwillingsgeburt	BRN – BMS2742~	COBANOGLU et al. (2005)
10	34.696.376	56.912.555	pat. NRR 90d	TGLA378 – TGLA102	KÜHN et al. (2003)
10	34.802.297	34.802.448	pat. NRR 60d	ILSTS053	SCHULMAN et al. (2008)
11	24.573.394	24.573.485	Beweglichkeit der Spermien	INRA177	DRUET et al. (2009)
11	46.591.394	59.371.132	mKV	BM6445 – INRA032~	SEIDENSPINNER et al. (2009)
11	84.124.847	90.545.495	RZ	HUJV174 – TGLA436	HÖGLUND et al. (2009a)
11	100.990.206	100.990.225	Rumpfwinkelung	BMS2208~	BOICHARD et al. (2003)
12	1.755.595	12.745.976	Zwillingsgeburt	BMS410 – BM6108	LIEN et al. (2000)
12	12.745.837	47.670.549	pat. NRR 56d	BM6108-	HÖGLUND et al.

			Kühe	BM860	(2009a)
12	27.231.432	–	Geburtsindex	rs29013272	SAHANA et al. (2011)
12	27.231.432	–	pat. Größe des Kalbs Kühe	rs29013272	SAHANA et al. (2011)
12	27.231.432	–	pKV Kühe	rs29013272	SAHANA et al. (2011)
14	9.479.131	28.938.756	Geburtsgewicht	BMS1747 – RM011*	MALTECCA et al. (2009)
14	26.534.081	26.534.193	Statur	BMS1941	SPELMAN et al. (1999)
14	51.326.875	51.326.981	Zwillingsgeburt	BMS108	COBANOGLU et al. (2005)
18	43.245.906	62.106.261	pKV Rinder	ILSTS002 – BM2078	SEIDENSPINNER et al. (2009)
18	43.245.906	62106261O	pTG	ILSTS002 – EAC°	SEIDENSPINNER et al. (2009)
18	44.853.955	55.860.871	mTG	BMON117 – BMS2785	THOMASEN et al. (2008)
18	55.807.264	60.135.318	pTG Rinder und Kühe	ss86324299 – ss86289990	SAHANA et al. (2011)
18	55.807.264	60.135.318	Geburtsindex	ss86324299 – ss86289990	SAHANA et al. (2011)
18	55.807.264	60.135.318	pKV Rinder und Kühe	ss86324299 – ss86289990	SAHANA et al. (2011)
18	55.807.264	60.135.318	pat. Größe des Kalbs Rinder und Kühe	ss86324299 – ss86289990	SAHANA et al. (2011)
18	62.106.154	65.406.767	mTG	BM2078 – TGLA227	KÜHN et al. (2003)
18	62.106.154	65.406.767	pTG Rinder	BM2078 – TGLA227	SEIDENSPINNER et al. (2009)
18	63.144.054	65.406.767	pKV	BM6507 – TGLA227	THOMASEN et al. (2008)
18	63.144.054	65.406.767	pTG	BM6507 – TGLA227	THOMASEN et al. (2008)
18	63.144.054	65.406.767	pat. Größe des Kalbs	BM6507 – TGLA227	THOMASEN et al. (2008)
19	23.778.046	23.778.156	Ovulationsrate	uw32	KIRKPATRICK et al. (2000)
19	25.837.047	41.372.598	pat. Größe des Kalbs Rinder und Kühe	ss86291810 – ss86294536	SAHANA et al. (2011)
19	25.837.047	41.372.598	pKV	ss86291810 – ss86294536	SAHANA et al. (2011)

19	25.837.047	41.372.598	mKV Rinder	ss86291810 – ss86294536	SAHANA et al. (2011)
19	25.837.047	41.372.598	Kalbeindex	ss86291810 – ss86294536	SAHANA et al. (2011)
22	45.685.723	57.581.174	Statur	BMS875 – BM4102	ASHWELL et al. (2004)
22	45.685.723	57.581.174	pat. Größe des Kalbs	BMS875 – BM4102	THOMASEN et al. (2008)
23	5.032.240	5.032.422	Prozentsatz lebender Sper- mien nach dem Auftauen	IOBT528	DRUET et al. (2009)
23	25.522.645	39.294.326	mTG Rinder	MB026 – BM1818	SEIDENSPINNER et al. (2009)
23	25.522.688	39.294.326	pTG Rinder	MB025 – BM1818	SEIDENSPINNER et al. (2009)
23	39.294.063	NA	mKV	BM1818 – KIEL_E7°	SEIDENSPINNER et al. (2009)
23	43.110.361	45.694.391	Kalbeverlauf (Prozentsatz Schwergeburi- ten)	CSSM24 – BM1905	ASHWELL et al. (2004)
25	6.257.409	12.159.341	mKV Rinder	ILSTS102~ – BM4005	SEIDENSPINNER et al. (2009)
25	6.257.409	20.060.968	pat. NRR 56d Rinder	ILSTS102~ – BMS2843~	HÖGLUND et al. (2009a)
25	16.113.126	22.890.173	pat Größe des Kalbs Kühe	ss61548284 – ss86340784	SAHANA et al. (2011)
25	16.113.126	22.890.173	mat. Größe des Kalbs, Rinder	ss61548284 – ss86340784	SAHANA et al. (2011)
25	16.113.126	22.890.173	Kalbeindex	ss61548284 – ss86340784	SAHANA et al. (2011)
26	3.701.517	33.773.754	pKV	BMS651 – BM4505	SCHNABEL et al. (2005)
26	20.334.217	20.334.373	Tragzeit	BM1314*	MALTECCA et al. (2009)
27	10.347.382	15.953.553	pKV	TGLA179 – RM209	SEIDENSPINNER et al. (2009)
29	16.958.959	34.590.087	Geburtsgewicht	BMC8012 – BMC3224	SCHROOTEN et al. (2000)

~ Markersequenz wurde geblastet

* die Marker, die am nächsten an der Position des angegebenen LRT_{max} waren, wurden ausgewählt und verwendet

° Marker wurde nicht gefunden; da jedoch der Marker BM2078 in unmittelbarer Nachbarschaft gefunden wurde, ist davon auszugehen, dass die Positionierung auf UMD 3.1 sehr ähnlich ist. Daher wurde die Position von BM2078 anstelle der Position des Marker EAC angegeben

Tabelle 11: Ergebnisse der MLMA#1 (MLMA-LOCO).

Gezeigt werden die signifikanten ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP für Merkmale und Autosome. Die unterste Zeile zeigt die Summe je Merkmal, die rechte Spalte die Summe je Autosom, die Zelle unten rechts die Gesamtsumme aller signifikanten SNP.

BTA	DO	mKV	mTG	NR56K	NR56R	pKV	RZ	VZK	VZR	pTG	Σ
1	7	4	1	0	0	1	0	8	0	0	21
2	4	2	1	1	0	1	2	1	0	0	12
3	0	1	2	0	0	0	0	2	2	0	7
4	0	2	0	0	1	0	2	3	0	0	8
5	0	11	0	0	0	4	0	1	0	1	17
6	6	22	10	6	5	0	17	1	3	0	70
7	0	1	1	0	0	2	0	1	0	1	6
8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
9	1	2	29	0	1	0	0	14	18	0	65
10	3	2	16	0	0	0	3	1	1	0	26
11	1	3	0	8	3	1	2	2	0	0	20
12	0	1	6	0	0	0	0	0	0	0	7
13	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
14	0	0	0	0	3	0	0	1	1	0	5
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	1	0	1	0	0	3	0	0	1	6
17	0	1	0	0	0	7	0	0	0	0	8
18	4	7	1	0	0	27	3	0	0	23	65
19	0	2	0	4	2	0	0	0	6	0	14
20	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
21	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	4
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	2	2	0	1	0	0	2	3	0	0	10
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4
26	1	0	0	0	0	0	8	0	0	0	9
27	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
28	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
29	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Σ	40	64	72	22	16	43	47	41	31	26	402

Tabelle 12: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP der MLMA auf BTA18 für alle Fruchtbarkeits- und Kalbemerkmale.

Alle signifikanten SNP wurden in grau hinterlegt. Der genomweit signifikanteste SNP wurde schwarz eingerahmt.

BTA	SNP	bp	p[DO]	p[mKV]	p[mTG]	p[NR56K]	p[NR56R]	p[pKV]	p[RZ]	p[VZK]	p[VZR]	p[pTG]
18	BFGL-NGS-112457	43766368	6,33E-06	9,24E-01	6,10E-01	6,55E-01	7,32E-01	6,53E-01	3,62E-05	1,50E-03	2,58E-03	8,57E-01
18	ARS-BFGL-NGS-104362	46697670	3,25E-05	5,44E-01	9,23E-01	6,93E-01	4,77E-01	8,10E-01	7,77E-06	2,81E-02	6,30E-01	8,18E-01
18	ARS-BFGL-NGS-102172	46826215	1,50E-06	9,10E-01	3,46E-01	3,88E-01	3,28E-01	4,23E-01	5,40E-05	1,25E-04	3,52E-03	3,78E-01
18	BTA-121138-no-rs	48241428	3,76E-04	1,67E-01	1,58E-02	7,81E-02	8,71E-02	2,74E-01	6,46E-06	1,95E-01	5,45E-02	5,66E-02
18	ARS-BFGL-NGS-34276	50465387	9,62E-07	2,07E-01	6,27E-01	9,19E-01	7,48E-01	6,84E-01	7,59E-06	2,45E-04	9,50E-03	4,77E-01
18	ARS-BFGL-BAC-36979	53571368	9,64E-02	2,76E-01	9,09E-01	4,54E-01	2,21E-01	1,23E-05	7,50E-02	3,24E-01	4,64E-01	9,59E-06
18	ARS-BFGL-NGS-7458	55590144	6,20E-02	1,84E-03	1,55E-03	4,79E-01	1,47E-01	7,83E-07	1,17E-01	1,65E-01	6,74E-01	7,01E-06
18	ARS-BFGL-NGS-93837	55807264	3,56E-03	8,72E-02	7,52E-03	6,85E-01	4,27E-01	7,92E-09	8,93E-04	1,74E-01	2,63E-01	5,59E-07
18	ARS-BFGL-NGS-25104	56364657	2,71E-01	3,79E-04	2,54E-04	2,62E-02	1,62E-03	2,46E-11	4,81E-01	2,62E-01	1,03E-02	8,53E-10
18	ARS-BFGL-NGS-104774	56561695	5,96E-02	4,02E-05	1,14E-04	1,99E-01	9,89E-02	1,14E-18	1,14E-01	1,42E-01	5,51E-02	7,45E-15
18	Hapmap39335-BTA-43845	56642741	8,20E-02	2,59E-02	6,68E-04	6,37E-01	6,18E-01	3,48E-06	5,09E-02	4,37E-01	5,40E-01	2,46E-06
18	Hapmap43854-BTA-43847	56702312	5,55E-02	3,53E-06	2,64E-04	6,34E-03	1,16E-01	7,91E-08	6,71E-01	3,36E-03	3,93E-01	1,35E-05
18	ARS-BFGL-NGS-98028	57174711	2,49E-03	1,41E-02	1,41E-02	2,34E-01	1,56E-01	9,43E-21	1,56E-02	7,21E-03	2,34E-02	3,63E-15
18	ARS-BFGL-NGS-25117	57238311	4,43E-03	1,77E-02	4,20E-01	3,36E-02	1,92E-01	1,63E-14	1,38E-01	5,87E-04	4,25E-02	1,41E-10
18	BTA-97501-no-rs	57565406	4,16E-02	1,62E-02	1,97E-02	5,40E-01	6,37E-01	1,08E-10	1,73E-01	4,04E-02	3,10E-01	1,01E-08
18	ARS-BFGL-NGS-109285	57589121	8,45E-04	1,03E-07	2,56E-06	5,49E-02	3,25E-02	3,92E-37	1,90E-02	1,00E-03	1,18E-03	2,42E-30
18	ARS-BFGL-NGS-6380	57788407	1,38E-01	1,03E-03	5,79E-04	9,60E-01	3,93E-01	6,12E-07	7,51E-02	5,07E-01	5,41E-01	1,30E-05
18	ARS-BFGL-NGS-25317	57949128	8,37E-04	9,03E-08	3,53E-04	1,26E-01	2,01E-01	6,72E-05	4,02E-03	4,87E-03	4,87E-01	2,51E-04
18	ARS-BFGL-NGS-53433	57969493	4,38E-04	1,02E-07	3,39E-04	1,07E-01	1,89E-01	7,01E-05	2,97E-03	2,44E-03	3,54E-01	1,95E-04
18	ARS-BFGL-BAC-2333	58067310	6,40E-02	1,29E-01	2,90E-02	2,77E-01	7,05E-02	1,39E-14	5,43E-02	2,41E-01	2,68E-01	2,53E-11
18	ARS-BFGL-NGS-66925	58260521	2,74E-01	5,49E-02	3,85E-02	2,01E-01	6,66E-02	2,84E-11	8,85E-01	8,50E-02	2,81E-01	1,83E-11
18	BFGL-NGS-112752	58352626	1,81E-01	6,58E-02	8,83E-02	3,46E-01	2,40E-02	1,34E-13	7,89E-02	6,04E-01	1,48E-01	2,01E-11

18	Hapmap45189-BTA-43948	58404041	7,58E-02	1,04E-01	2,42E-02	8,19E-02	1,62E-03	4,39E-09	9,49E-02	1,70E-01	6,51E-02	7,94E-09
18	Hapmap40906-BTA-121147	58551307	3,47E-02	2,73E-04	4,33E-04	4,09E-01	2,59E-01	1,42E-16	2,53E-01	1,23E-02	1,58E-02	6,64E-16
18	Hapmap40537-BTA-43945	58666276	1,27E-01	1,59E-02	1,15E-02	1,40E-02	1,29E-03	2,05E-08	2,45E-01	1,13E-01	2,15E-02	1,59E-08
18	BFGL-NGS-116069	59802319	5,61E-05	9,69E-03	5,84E-03	1,15E-01	9,92E-01	1,12E-09	3,57E-03	1,37E-04	1,30E-01	2,27E-07
18	BFGL-NGS-118325	60103953	4,68E-01	5,87E-07	9,31E-05	2,92E-01	2,20E-01	1,00E-15	7,62E-01	2,99E-01	1,06E-01	6,83E-12
18	ARS-BFGL-NGS-39594	60135318	5,74E-01	2,46E-06	1,84E-04	1,85E-01	1,94E-01	2,22E-15	9,27E-01	3,11E-01	1,76E-01	5,81E-12
18	ARS-BFGL-NGS-17877	60377508	4,85E-01	9,07E-02	3,71E-02	4,92E-01	9,77E-02	3,58E-07	7,39E-01	3,54E-01	1,41E-01	1,12E-07
18	ARS-BFGL-NGS-107318	61024520	9,88E-02	2,03E-05	1,66E-01	4,37E-02	9,20E-02	2,11E-06	5,93E-01	2,35E-02	4,14E-01	8,31E-05
18	BFGL-NGS-113023	61156737	4,15E-01	7,40E-04	2,60E-02	9,96E-01	6,76E-01	6,09E-10	4,71E-01	5,16E-01	7,69E-01	2,31E-07
18	ARS-BFGL-NGS-49873	61267887	5,52E-03	1,60E-02	3,36E-03	2,46E-01	3,15E-01	4,51E-08	6,82E-03	7,41E-02	1,22E-01	1,47E-04
18	BTA-03959-no-rs	62221442	1,88E-02	8,52E-06	1,25E-04	5,07E-01	9,91E-01	1,32E-05	8,01E-02	2,28E-02	6,15E-02	1,24E-03
18	ARS-BFGL-BAC-31654	62250437	8,52E-06	8,96E-01	9,52E-02	1,88E-01	6,92E-01	8,72E-01	2,80E-04	9,00E-05	1,44E-02	8,16E-01
18	ARS-BFGL-NGS-1786	62571431	2,29E-01	1,40E-02	1,04E-02	5,69E-01	4,20E-01	2,44E-06	3,43E-01	2,16E-01	6,44E-01	7,61E-07
18	ARS-BFGL-NGS-103214	63096692	2,56E-02	8,22E-02	1,71E-01	2,26E-01	3,56E-01	5,87E-14	6,63E-02	4,79E-02	2,47E-01	4,52E-15
18	ARS-BFGL-NGS-17826	64286141	2,41E-03	1,77E-01	6,88E-02	2,65E-01	7,51E-01	5,59E-06	3,83E-02	2,37E-03	1,13E-01	6,60E-04
	$\sum < 1 \times 10^{-5}$		4	7	1	0	0	27	3	0	0	23

X. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

1. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Darstellung des SNP-Chip.</i>	12
<i>Abbildung 2: Kriterium 1 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.</i>	38
<i>Abbildung 3: Kriterium 1 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL, wie auch in Abbildung 2 gezeigt.</i>	39
<i>Abbildung 4: Kriterium 2 der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.</i>	40
<i>Abbildung 5: Kriterium 3 des Schemas der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.</i>	41
<i>Abbildung 6: Kriterium 4 des Schemas der Zuteilung der LRT_{max} zu QTL.</i>	42
<i>Abbildung 7: Box-Whisker-Plots zur Veranschaulichung der Ausreißer der deregressierten Zuchtwerte für maternale (mTG) und paternale Totgeburten (pTG) sowie maternale (mKV) und paternale Kalbeverläufe (pKV).</i>	47
<i>Abbildung 8: LRT-Werte der cLDLA (MODELL#1) für die 10 verwendeten Phenotypenmerkmale.</i>	48
<i>Abbildung 9: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP je Autosom.</i>	50
<i>Abbildung 10: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP je Merkmal.</i>	50
<i>Abbildung 11: Der Graph zeigt die LRT-Kurve (MODELL#1) für maternalen (mKV rot) und paternalen Kalbeverlauf (pKV, grün) sowie maternale (mTG, gelb) und paternale Totgeburt (pTG, blau) auf BTA18.</i>	51
<i>Abbildung 12: Verteilung des Haplotyps Q1 auf verschiedene Diplotypeffekt- Intervalle.</i>	53
<i>Abbildung 13: Die Region, in welcher der vermutete kausale Haplotyp (Hap) Q1 liegt. Mit verschiedenen langen Haplotypen wurde veranschaulicht, wie die Region durch die Haplotypen vom HD-Chip eingegrenzt wurde.</i>	54
<i>Abbildung 14: Vergleich der Ergebnisse der deregressierten Zuchtwerte (blau) mit den unveränderten (regressierten) Zuchtwerten (rot) des MODELL#1 für das Merkmal paternaler Kalbeverlauf auf BTA18.</i>	63
<i>Abbildung 15: Verlauf für die Kurven der Kalbemerkmale mit deregressierten Zuchtwerten für MODELL#1.</i>	63
<i>Abbildung 16: Der $-\log(P)$ für den paternalen Kalbeverlauf der regressierten Zuchtwerte (rote Linie) im Vergleich zu den deregressierten Zuchtwerten (blaue Linie) auf BTA18.</i>	64

<i>Abbildung 17: Der $-\log(P)$ für die paternale Totgeburt der regressierten Zuchtwerte (rote Linie) im Vergleich zu den deregressierten Zuchtwerten (blaue Linie) auf BTA18.</i>	64
<i>Abbildung 18: Vergleich für das Merkmal paternaler Kalbeverlauf für MODELL#1, MODELL#2 und der MLMA#1.</i>	65
<i>Abbildung 19: MODELL#3 (durchgehende Linie) verglichen mit der initialen cLDLA (= MODELL#1; gestrichelte Linie) jeweils für paternalen Kalbeverlauf auf BTA18.</i>	66
<i>Abbildung 20: Paternaler Kalbeverlauf für MODELL#1 (blaue Linie) und MODELL#3 (grüne Linie).</i>	67
<i>Abbildung 21: Paternale Totgeburt für MODELL#1 (blaue Linie) und MODELL#3 (grüne Linie).</i>	67
<i>Abbildung 22: Fruchtbarkeitsmerkmale in MODELL#3.</i>	68
<i>Abbildung 23: Vergleich des paternalen Kalbeverlaufs für MODELL#3 (gestrichelt mit Rauten) mit MODELL#4 (durchgehende Linie).</i>	69
<i>Abbildung 24: Vergleich der paternalen Totgeburt für MODELL#3 (gestrichelt mit Rauten) mit MODELL#4 (durchgehende Linie).</i>	69
<i>Abbildung 25: Paternaler Kalbeverlauf, Vergleich von MODELL#1 bis MODELL#4 auf BTA18.</i>	70
<i>Abbildung 26: Paternale Totgeburt, Vergleich von MODELL#1 bis MODELL#4 auf BTA18.</i>	70
<i>Abbildung 27: Vergleich für den paternalen Kalbeverlauf zwischen MODELL#1 (gepunktet mit Rauten) und MODELL#5 (durchgehende Linie).</i>	71
<i>Abbildung 28: Der SNP rs483267294 (roter Pfeil) bei 57.521.276 bp in CTU1 für die vier sequenzierten Tiere.</i>	73
<i>Abbildung 29: Die SNP rs379481803 (roter Pfeil) bei 57.591.394 bp und rs461033009 (blauer Pfeil) bei 57.591.440 bp in Siglec12 für die vier sequenzierten Tiere.</i>	74
<i>Abbildung 30: Der SNP rs207571341 (roter Pfeil) bei 58.108.985 bp in ZNF615 für die vier sequenzierten Tiere.</i>	75

2. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Laktationsleistungen der deutschen Schwarzbunten Holstein-Friesian (HF) und Rotbunten HF für das Jahr 2014 (VIT, 2015).</i>	6
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

<i>Tabelle 2: Übersicht über die Ergebnisse der cLDLA, MODELL#1.</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 3: Namen der SNP, Positionen (Pos.) am LRT_{max} sowie Basen der SNP des Haplotyps Q1</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 4: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP der MLMA-LOCO für paternalen Kalbeverlauf (pKV) und paternale Totgeburt (pTG).</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 5: Genomweite Korrelationen und Korrelationen nach Spearman des LRT_{max}.</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 6: Korrelationen des VIT (2527) und Korrelationen nach Pearson des LRT_{max}.</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 7: Übersicht der kartierten QTL (mit Merkmal und Position), für welche in der Literatur QTL (Position von Start bis Ende) gefunden wurden, die ,indirekt‘ mit den kartierten QTL verknüpft sind.</i>	<i>77</i>
<i>Tabelle 8: Ausreißer der deregressierten Zuchtwerte, die für eine cLDLA ausgeschlossen wurden.</i>	<i>117</i>
<i>Tabelle 9: Mit der kombinierten Kopplungsungleichgewichts- und Kopplungsanalyse kartierte QTL.</i>	<i>118</i>
<i>Tabelle 10: In der Literatur gefundene QTL.....</i>	<i>120</i>
<i>Tabelle 11: Ergebnisse der MLMA#1 (MLMA-LOCO).</i>	<i>124</i>
<i>Tabelle 12: Signifikante ($P < 1 \times 10^{-5}$) SNP der MLMA auf BTA18 für alle Fruchtbarkeits- und Kalbemerkmale.</i>	<i>125</i>

XI. DANKSAGUNG

Mein Dank gilt der Tierzuchtforschung e.V. München, die mich für die Anfertigung dieser Dissertation einstellte. Insbesondere Prof. Dr. Georg Thaller und Dr. Ingolf Ruß, welche die Ressourcen für die Finanzierung meiner Stelle bereitstellten und auch die Finanzierung der weiteren benötigten 50k-, HD-Chips und Sequenzierungen unkompliziert ermöglichten.

Weiter bedanke ich mich auch sehr herzlich bei meinem Doktorvater PD Dr. Ivica Medugorac für die Bereitstellung des Themas und die Betreuung während der Dissertationszeit sowie die kritische Durchsicht des Manuskripts. Er bot mir die Möglichkeiten der Weiterbildung sowie den Besuch interessanter Veranstaltungen und ermöglichte es mir überhaupt erst diese Dissertation anzufertigen.

Weiterhin gebührt meine Dankbarkeit auch meiner Mitbetreuerin und Kollegin Dr. Sophie Rothhammer: Bei Fragen hatte sie immer ein offenes Ohr, leistete mir stets bereitwillig Hilfestellung und jederzeit nahm sie sich die Zeit, mir bei Problemen zu helfen und Korrektur zu lesen. Mein Dank gilt auch allen weiteren Kollegen des Lehrstuhls für Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre der Tiermedizinischen Fakultät. Hier im Besonderen meinen Mitdoktorandinnen Elisabeth Kunz, Kristin Heidrich, Victoria Göckmann und Fanny Bitzer. Natürlich danke ich auch allen anderen Angestellten des Lehrstuhls, Jelena Ramljak, Martin Dinkel, Renate Damian, Karina Schadt sowie Sissi Stern und Foteini Kyriakou, für ihre freundliche Art, ihr offenes Ohr, ihre Hilfsbereitschaft, den freundschaftlichen Umgang sowie das gute Arbeitsklima, welches insbesondere durch zahlreiche ‚Teambildende Maßnahmen‘ unterstützt wurde.

Ich bedanke mich bei meiner Familie und meinen Freunden für die jahrelange Unterstützung und ihr Verständnis, dass sie jeweils für mich aufbrachten.

Des Weiteren danke ich meinem Freund Dr. H.-J. Treude. Er prägte von Anfang an mein Verständnis für die Tiermedizin und war wohl der erste Tierarzt, mit dem ich wissentlich Kontakt hatte. Nachdem ich den Entschluss fasste, Tierarzt zu werden, durfte ich ihn sehr lange Zeit in seiner Fahrpraxis begleiten. Bei ihm konnte ich viel sehen und lernen. Meine Eindrücke bestärkten den Wunsch Tierarzt zu werden, und ich fand in seiner Praxis die Motivation in den harten und nicht so angenehmen Zeiten des Studiums.

Natürlich und nicht zuletzt möchte ich mich auch noch bei meiner Freundin und ihrer Familie bedanken. Ohne Sie und ihre Unterstützung wäre das Dissertationsvorhaben wohl in dieser Form nie zustande gekommen.

Und zu guter Letzt bedanke ich mich bei allen nicht namentlich erwähnten Personen, die mich unterstützt und auf meinem Weg begleitet haben.